Digitized by Google

Class Book

University of Chicago Library
GIVEN BY

Besides the main topic this book also treats of

Subject No.	On page	Subject No.	On page

Digitized by Google

Digitized by Google

Bacter.
Cdg 2V
$1.80

~~Bacter~~ Gen

Class *Book*

University of Chicago Library

GIVEN BY

Besides the main topic this book also treats of

Subject No.	*On page*	*Subject No.*	*On page*

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. E. CRAMER, Heidelberg; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. J. v. FODOR, Budapest; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Oberstabsarzt Dr. A. SCHUSTER, München.

HERAUSGEGEBEN

VON

H. BUCHNER, J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

MÜNCHEN STRASSBURG WIEN LEIPZIG BERLIN.

SIEBENUNDDREISSIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND **LEIPZIG.**
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1900.

Digitized by Google

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY

RA421
.A6

Digitized by Google

144233

Inhalt.

Seite

Vergleichende Studien über den Bacillus pyocyaneus und den Bacillus fluorescens liquefaciens. Von Dr. Stanislaus Růžička, Assistenten am Institute. (Aus dem hygienischen Institute des Professors Dr. G. Kabrhel in Prag) 1

Zur Biologie der peptonisirenden Milchbacterien. Von Dr. Otto Kalischer in Berlin. (Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin) 30

Ueber Buttersäuregährung. I. Abhandlung. Von A. Schattenfroh und R. Grassberger, Assistenten am Institute. (Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.) (Mit Tafel I) . . 54

Experimentelle Beiträge zur Aetiologie und pathologischen Anatomie der Pest. I. Von Professor Dr. A. Sata aus Osaka, Japan. (Aus dem hygienischen Institute der Universität Freiburg i. Br.) . . 105

Experimentelle Untersuchungen über das Conserviren von Fisch und Fleisch mit Salzen. Von Alfred Pettersson aus Upsala. (Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Dr. Hueppe) 171

Zum Verhalten von Gasflammen im abgeschlossenen Raum. Von Assistenzarzt Dr. Georg Mayer. (Aus der Untersuchungsstation für das kgl. II. bayerische Armeecorps am Garnisonslazareth Würzburg.) (Mit Tafel II) 239

Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Mauerfeuchtigkeit. Von Dr. Gino de Rossi, Assistent am hygienischen Institute in Pisa. 271

Ueber das Verhalten virulenter und avirulenter Culturen derselben Bacterienspecies gegenüber activem Blute. Von Dr. M. Nadoleczny. (Aus dem hygienischen Institute der Universität München) 277

Ueber Extraction von Alexinen aus Kaninchenleukocyten mit dem Blutserum anderer Thiere. Von Dr. P. Laschtschenko, Privatdocent an der Universität Charkow. (Aus dem hygienischen Institute der Universität München) 290

6233

Digitized by Google

Seite

Experimentelle Beiträge zur Methodik der Mauerfeuchtigkeitsbestimmung. Von Regimentsarzt Dr. Franz Ballner. (Aus dem hygienischen Institute der Universität in Innsbruck) 310

Zwei Apparate zur Bestimmung des Sauerstoffs in Gasgemengen vermittelst der Titrir-Methode. Von Dr. G. W. Chlopin, o. Professor der Hygiene u. Director des hygien. Instituts an der Kais. Universität in Jurjew (Dorpat) 323

Untersuchungen über Milchsäuregärung und ihre praktische Verwerthung. Von Dr. Stanislaus Epstein, Assistenten am Institute. (Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand Prof. Hueppe) 329

Digitized by Google

Vergleichende Studien über den Bacillus pyocyaneus und den Bacillus fluorescens liquefaciens.

Von

Dr. **Stanislav Růžička,**

Assistenten am Institut.

(Aus dem hygienischen Institute des Professors Dr. G. Kabrhel in Prag.)

II.[1])

Es scheint ziemlich schwer begreiflich zu sein, dass die Frage, bis zu welchen Grenzen die Variabilität der Eigenschaften in der Mikrobenwelt sich erstreckt, so wenig systematische Bearbeitung erfährt, obwohl sie von nicht geringer Wichtigkeit sein dürfte.

Dass die Eigenschaften der Mikroben überhaupt veränderlich sind, darüber besteht wohl bei Denjenigen, welche sich mit dem Studium derselben beschäftigen, kein Zweifel (Veränderungen der Virulenz, des Farbstoffbildungsvermögens u. A.).

Es wäre aber für die biologischen Wissenschaften, sowie auch für ihre praktischen Applicationen von grosser Wichtigkeit, wenn es gelingen würde, einige Fragen in der angedeuteten Richtung gründlicher zu erforschen. Namentlich, wenn es gelingen würde, die Grenzen zu bestimmen, bis zu welchen solche Veränderungen der Eigenschaften gehen können, ferner die ursächlichen Momente einzelner solcher Veränderungen festzustellen und endlich die Frage zu beantworten, inwieweit sich solche Veränderungen erhalten können, nachdem die Wirkung der betreffenden ursächlichen Momente aufgehört hat.

1) Die I. Abtheilung dieser Studie ist im XXXIV. Bande dieses Archivs erschienen.

Digitized by Google

Ausser einigen Angaben von weniger bekannten Autoren sind in der Literatur auch aus der Periode der festen durchsichtigen Nährböden mehrere Beobachtungen verzeichnet, welche sich auf diese Fragen beziehen, und an deren Richtigkeit ohne bestimmte Gründe zu zweifeln Niemand das Recht hat[1]).

Besonders interessant ist bezüglich unserer Frage das Schicksal des Koch'schen Choleravibrio nach seiner Einschleppung nach Europa. Dieser Mikrobe ist hier verschiedenen Umänderungen unterlegen, wodurch mehr oder weniger von dem ursprünglichen Typus abweichende Stämme entstanden sind[2]).

Als ein höchst interessantes Pendant zu den von vielen Bacteriologen über die Modificationen der typischen Eigenschaften des Choleravibrio gemachten Beobachtungen sei hier eine von Celli und Santori mitgetheilte Wahrnehmung angeführt[3]). Diese Forscher fanden nämlich in 44 Cholerafällen 12mal einen Vibrio, welcher keine Indolreaction aufwies, für die Meerschweinchen nicht pathogen war, bei 37° C. weder in Bouillon noch auf dem Agar wuchs, nach achtmonatlicher Cultivation jedoch bis auf die Pathogenität typische Eigenschaften aufwies.

Aehnliche Beobachtungen von dauernden Umänderungen wichtiger Eigenschaften bei pathogenen sowie auch bei nicht pathogenen Mikroben gibt es in der Literatur noch mehrere.

Charrin und Phisalix[4]) erhielten durch längere Züchtung (in mehreren Generationen) des Bac. pyocyaneus bei 42,5° C. farb- und geruchlose Culturen, welche Umänderung sich dann auch unter normalen Verhältnissen weitererhielt. Die vierte Generation konnte noch mittels Passage durch den Thierkörper in die ursprüngliche Form überführt werden, die sechste dagegen nicht mehr.

---

1) Zahlreiche Beobachtungen von ähnlichen Umänderungen, welche nach Zusatz von Chemikalien, Erhöhung oder Erniedrigung der Temperatur und ähnlichen Einwirkungen eingetreten sind, nach Herstellung normaler Verhältnisse jedoch sich sogleich zurückgebildet haben, werden hierher nicht gerechnet.

2) Zäslein, Deutsche medic. Zeitung, 1888.

3) Centralblatt für Bacteriol., I. Theil, Bd. XV, 1894.

4) Comptes rend., CXIV, 1892.

Digitized by Google

Dieudonné[1]) accommodirte den Milzbrandbacillus durch Züchtung bei fortschreitend erniedrigter Temperatur, niederen Temperaturgraden (bis unter 12° C.), so dass er bei solchen niederen Temperaturgraden üppig wuchs und für Frösche pathogen wurde, ohne dass es nöthig war, dieselben bei höheren Temperaturen zu halten. Weniger gut gelangen ihm umgekehrte Experimente mit Accommodation an höhere Wärmegrade (42°).

Nicht minder interessant sind die Experimente von Fischel[2]), Nocard[3]) und anderen Autoren, nach welchen der Bacillus der Vögeltuberculose durch Züchtung im Säugerorganismus in den Bacillus der Säugethiertuberculose und umgekehrt überführt werden kann.

Phisalix[4]) beobachtete dauernden Verlust des Sporenbildungsvermögens beim Milzbrandbacillus nach mehrwöchentlicher Züchtung bei 42° C.

Firtsch[5]) erhielt aus (bis ein Jahr) alten Stichculturen eines Vibrio Proteus beim Plattenguss Formen, welche bedeutende Abweichungen vom Typus aufwiesen. Es zeigten nämlich die auf den Gelatineplatten ausgewachsenen Colonien in der Mitte eine scharf begrenzte braune Masse, welche von einer ganz klaren Verflüssigungszone umgeben war; ausserdem war das Verflüssigungsvermögen bedeutend geringer. Durch wiederholtes fortschreitendes Plattengiessen erhielt jedoch Firtsch Formen, welche sich dem Typus näherten. Diese Rückkehr zur typischen Form geschah desto langsamer, je älter die benützte ursprüngliche Cultur war.

Schottelius[6]) gibt an, dass einzelne Stellen von Culturen des Bac. prodigiosus zuweilen blasser sind; wenn man von

1) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte, 9. Bd., 1894.

2) Untersuchungen über die Morphologie und Biologie des Tuberculoseerregers. Wien und Leipzig. W. Braumüller, 1893.

3) Annales de l'Inst. Pasteur, 1898.

4) Referat im Centralblatt für Bacteriologie, 1893.

5) Archiv für Hygiene, Bd. VIII.

6) Biologische Untersuchungen über den Mc. prodigiosus. Festschrift für A. v. Kölliker. Referat im Centralblatt f. Bacteriol., II, 1887.

Digitized by Google

diesen blasseren Stellen weiter cultivirt, so wird die Farbe immer blasser, bis endlich die Culturen ganz farblos (weiss) werden, wobei zugleich der Geruch nach Trimethylamin verlören geht, während alle übrigen Eigenschaften unverändert bleiben. Aber es können wieder jederzeit in der weissen Cultur rothe Colonien erscheinen. Bei dieser Beobachtung von Schottelius ist besonders der Umstand auffallend und interessant, dass diese Umänderungen unter unveränderten Cultivirungsbedingungen auftraten — soweit dieselben allerdings vom Experimentator beherrscht werden können.

Eine ähnliche Beobachtung rührt von Migula[1]) her, welcher auch des Näheren angeben konnte, unter welchen Verhältnissen solche Umänderungen auftreten können. Derselbe gibt an, dass der Bac. prodigiosus, auf dem Agar gezüchtet, seinen Farbstoff jahrelang behält, dass er denselben aber doch endlich langsam verliert. Auf die Kartoffel jedoch oder auf einen Reisboden übertragen, gewinnt er die Fähigkeit, den rothen Farbstoff zu produciren, sehr schnell wieder, wenn er auf dem Agar nur kurze Zeit farblos wuchs; je länger er aber nach Verlust des Farbstoffbildungsvermögens auf dem Agar fortgezüchtet wurde, desto länger wächst der Mikrobe, auch nachdem er auf stärkehaltigen Nährboden übertragen worden war, ohne Farbstoffproduction.

Hierher gehört ferner die folgende Angabe von Migula[2]): »Bacterien, welche bei ihrem Auffinden Gelatine verflüssigen und bei fortgesetzter Cultur dies in immer geringerem Grade thun, schliesslich gar nicht mehr, sind keine Seltenheiten, ebenso ist der umgekehrte Fall beobachtet worden.« Leider ist aber ausser dieser ganz allgemein gehaltenen Angabe nichts Näheres angeführt.

Hansen[3]) hat bei Saccharomyceten durch Cultivirung bei dem Maximum nahen Temperaturgraden Verlust des Sporen-

1) System der Bacterien. Jena 1897, I, S. 226.

2) a. a. O., S. 235.

3) Referat im Centralblatt für Bacteriol., Bd. VII.

Digitized by Google

bildungsvermögens beobachtet, welche Veränderung sich erhalten hat, obwohl die Saccharomyceten ein ganzes Jahr hindurch unter verschiedenen Bedingungen fortgezüchtet wurden.

Zupnik[1]) sind aus einer Reincultur (aus Höchst) der Löffler'schen Diphtheriebacillen auf gewöhnlichem Agar (auf Serum- und Glycerinagar war dieser Unterschied nicht bemerkbar) zweierlei Colonien ausgewachsen. Die einen waren gross, flach, matt, mit unregelmässigem Rand. Die Mikroben waren nach Gram positiv färbbar; in Bouillon erzeugten sie keine Trübung, sondern bildeten gleich einen Hautüberzug; Meerschweinchen wurden von denselben getödtet. Die anderen waren klein, gewölbt, glänzend, kreisrund. Die Mikroben färbten sich nach Gram negativ mit positiven runden Gebilden im Innern; in Bouillon erzeugten sie anfangs Trübung und bildeten ein Häutchen erst nach 30 Stunden, worauf die Trübung verschwand; Meerschweinchen einverleibt, erzeugten sie bloss Infiltrate und Nekrosen. Aehnliche Differenzen fand der Autor auch bei von ihm reingezüchteten Löffler'schen Bacillen.

Die bisher angeführten Beobachtungen stammen grösstentheils sicher von glaubwürdigen Autoren her und wurden weder von denselben revociert noch von Anderen widerlegt. Es wäre somit recht natürlich, wenn die Bacteriologen und die Hygieniker in diesen Erscheinungen eines von den wichtigsten Problemen in dem anfangs berührten Sinne erblicken und systematisch Experimente über das Verhalten der Mikroben unter den verschiedenen in der Natur vorkommenden Verhältnissen anstellen würden.

Den Grund, warum diese so wichtigen Fragen so wenig experimentell bearbeitet werden, ist in mehreren Umständen zu suchen.

Erstens darin, dass solche Experimente durch lange Zeit negativen Erfolg haben können, welcher allerdings für die Frage — und somit auch für den Experimentator — von sehr geringer Bedeutung ist.

---

1) Berliner klin. Wochenschr., 1897. (Vorläufige Mittheilung.)

Digitized by Google

Zweitens können auch bei derselben — soweit dies in der Macht des Experimentators liegt — Anordnung des Experimentes differente Versuchserfolge eintreten, wie dies schon aus der angeführten Beobachtung von Schottelius hervorgeht und wie auch meine später anzuführenden Erfahrungen zeugen.[1]) Diese Erscheinung ist wohl durch die Einwirkung geringer Einflüsse zu erklären, welche der Experimentator nicht ganz zu beherrschen vermag.

Drittens wird Mancher von solchen Experimenten durch die Möglichkeit abgeschreckt, dass auch seine eventuellen positiven Beobachtungen, besonders wenn sich dieselben nicht beliebig wiederholen liessen, von einigen Seiten im günstigsten Falle mit Schweigen angenommen werden würden.

Nach dieser Einleitung will ich zur Beschreibung meiner eigenen Experimente übergehen.

Ich habe zum Studium dieser Fragen den Bac. pyocyaneus und den Bac. fluorescens liquefaciens gewählt.

Diese Mikroben erscheinen nämlich zu diesem Zwecke verhältnismässig sehr geeignet, da sich aus der Biologie dieser einander in allen Beziehungen sehr ähnlicher Mikroben ein wahrscheinlicher Weg, auf welchem dieselben ineinander übergehen dürften — wenn solches in der Natur geschehen sollte —, sehr ungezwungen ergibt. Und es gehört auch nicht zu den allerschwierigsten Problemen, diesen supponierten Vorgang — wenigstens in einigen Theilen — durch das Experiment nachzuahmen.

Bevor ich jedoch zur Bearbeitung des eigentlichen Themas übergehen konnte, musste ich einen verlässigen Maassstab zur Unterscheidung dieser zwei Typen haben, welche in solchem Grade einander ähnlich sind, dass in der Literatur schon die Vermuthung ausgesprochen wurde, dass eine engere biologische

1) Andererseits beobachtete Kukula (Verhandlungen der Kaiser Franz-Josephs-Akademie in Prag, V, II. Classe, Nr. 43) beim Bacillus pyocyaneus nach Passage durch den Thierkörper Umänderung des gelblich-grünen Farbstoffes in den dunkelgrünen; in anderen Fällen aber die umgekehrte Umänderung ebenfalls nach Incorporation.

Digitized by Google

Beziehung zwischen ihnen besteht. (Lehmann-Neumann, Atlas und Grundriss der Bacteriologie.)

Diesen Gegenstand behandelt ausführlich die I. Abtheilung dieser meiner Studie[1]), in welcher ich zu dem Schlusse gekommen bin, dass es nicht in allen Fällen gut möglich ist, diese zwei Typen strenge zu unterscheiden.

Ich musste somit bei der Verfolgung der Frage, ob die zwei Typen ineinander übergehen können, mir das Thema etwas enger fassen: ob nämlich bei typischen Stämmen beider Formen wechselseitige Umänderungen wenigstens einzelner dieselben unterscheidenden Eigenschaften auftreten können.

Zu diesem Zwecke habe ich mehrere Reihen von Experimenten angestellt, welche im Folgenden beschrieben sind.

Bei diesen Versuchen wurden also typische Stämme beider Formen, welche grösstentheils S. 153 der I. Abtheilung dieser Studie (a. a. O.) angeführt und auch im Weiteren auf die dortselbst angeführte Weise bezeichnet werden, benützt.

Der zweckmässigste Weg zur Lösung dieses Themas ist natürlich, bei Versuchen jene Verhältnisse nachzuahmen, unter welchen in der Natur wahrscheinlich diese Umänderungen, wenn sie überhaupt wirklich vorkommen, vor sich gehen könnten.

Für die Unterlage zum Entwurfe der Versuche diente mir also folgende Erwägung:

Der Bac. fluorescens kann gewiss öfters auf die Wunden und auf die Oberfläche des menschlichen Körpers überhaupt, welcher fast ausschliesslicher Fundort des Bac. pyocyaneus ist, mit Wasser (beim Waschen u. s. w.) gelangen. Ebenfalls umgekehrt gelangt der Bac. pyocyaneus mit derselben Wahrscheinlichkeit gleichfalls mit dem Waschwasser in öffentliche Gewässer. Ich habe mich also entschlossen, in dieser Richtung zwei Versuchsreihen durchzuführen: in der einen derselben sollte betrachtet werden, ob und wie der typische Bac. fluorescens seine Eigenschaften unter den Verhältnissen auf der Wunde oder auf der Oberfläche des menschlichen Körpers überhaupt möglichst

1) Archiv für Hygiene, Bd. XXXIV.

Digitized by Google

gleichen Umständen ändert; durch die zweite Versuchsreihe sollte sichergestellt werden, ob und eventuell wie der typische Bac. pyocyaneus seine Eigenschaften bei dem Aufenthalte im Wasser ändert.

Versuche über das Verhalten des Bacillus fluorescens liquefaciens „unter parasitischen Verhältnissen".

In dieser Richtung trachtete ich vor Allem, zu verfolgen, wie sich der typische fluorescirende Bacillus auf der Wunde verhält. Es ist jedoch klar, dass, wenn so ein Versuch die Möglichkeit verlässiger Schlüsse darbieten soll, eine solche Wunde vollkommen aseptisch erhalten werden muss, so dass auf derselben eine Reincultur, ähnlicher Weise wie auf einem künstlichen Nährboden in der bacteriologischen Eprouvette, gezüchtet werden könnte.

Nach zahlreichen vergeblichen Versuchen ist es mir endlich doch gelungen, eine Methode zu erzielen, mittels welcher man beim Thier die Wunde mit bedeutender Wahrscheinlichkeit aseptisch erhalten kann — jedoch nur auf die Dauer von etwa 10 Tagen. Warum dann Infection eintritt, wird aus der Beschreibung der betreffenden Methode erhellen.

Die Grundidee dieser Methode war, die bacteriologische unten geöffnete Eprouvette mit den Rändern dieser Oeffnung an die Wunde so zu befestigen, dass die in dem Inneren der Eprouvette befindliche Wundfläche im aseptischen Zustande erhalten werden könnte, und dass sie zugleich, zum Zwecke der Impfung, durch die obere mit Wattetampon geschlossene Eprouvetteöffnung zugänglich wäre.

Die Art, welche sich zur Durchführung dieser schwierigen Aufgabe am besten erwiesen hat, war die folgende:

Ein Glasröhrchen von mittelmässig dickem Glase (ungefähr 4 cm lang und 1,2 cm dick), dessen Ränder an dem einen Ende rund herum zu einer zur Achse des Röhrchens vertikalen Fläche umgekrämpt waren, an dem nicht umgekrämpten Ende mit Korkverschluss[1]) versehen, wurde sterilisirt und unter aseptischen

1) Der Watteverschluss hat sich zu diesem Zwecke nicht bewährt.

Digitized by Google

Cautelen mit dem umgekrämpten Ende einem Meerschweinchen am Rücken in der Medianlinie in eine Hautöffnung eingeführt, welche nur so gross sein darf, dass in dieselbe das Röhrchen nur mit grösserer Gewalt eingeführt werden kann.

Nachdem dies durchgeführt worden ist, kann man das Thier ohne Weiteres in den Käfig geben, in welchem aber das Thier vollkommen allein sein muss. Der Hautrand trocknet sehr rasch an das Glas[1]) an, und das Röhrcheninnere ist vollkommen aseptisch und verbleibt in diesem Zustande etwa 10 Tage, d. i. so lange, bis der angeklebte Hautrand infolge der eintretenden Sequestration des Röhrchens als Fremdkörper sich abzutrennen anfängt.

Inficirt man nach Einführung des Röhrchens die Wunde mit einer Reincultur, so kann man mit grosser Wahrscheinlichkeit darauf rechnen, dass sie während etwa 10 Tagen rein erhalten wird, was natürlich durch Plattengiessen constatirt werden kann. Wenn man einen Mikroorganismus länger in Reincultur auf der Wunde lassen wollte, so könnte man denselben z. B. immer etwa am 8. Tage in ein solches frisches Röhrchen übertragen.

Man muss aber hierorts anführen, dass so ein angetrocknetes Röhrchen bei Bewegungen des Versuchsthieres im Käfig keine Stösse erleiden darf, wodurch selbstverständlich jener Kitt (geronnenes Blutplasma etc.) durchgebrochen werden könnte. Es empfiehlt sich darum, zu diesen Versuchen Meerschweinchen zu benützen und das betreffende Röhrchen am Rücken in der Medianlinie zu befestigen, denn die Meerschweinchen bewahren sehr consequent die normale Rumpflage, infolgedessen der Rücken in keinen Contact mit den Wandungen oder dem Boden des Käfigs kommt. Aus demselben Grunde muss weiter ein jedes solches Thier isolirt werden (damit die Anderen nicht über seinen Rücken kriechen können etc.), der Käfig darf nicht mit Stroh oder Heu, sondern mit Sägespänen oder Torf bestreut werden,

1) Das Bestreichen dieser Ränder noch mit Collodium hat sich nicht bewährt.

Digitized by Google

weil die Meerschweinchen sich gerne in's Stroh oder Heu verkriechen, wodurch ebenfalls die Verkittung des Röhrchens mit der Haut beschädigt werden könnte.

Bei solchen Versuchen, im Ganzen 17 an Zahl, welche ich mit verschiedenen Stämmen des fluorescirenden Bacillus durchgeführt habe, hat sich gezeigt:

1. Dass sich der fluorescirende Bacillus, sei er auf der Wunde in Reincultur oder verunreinigt[1]), auf der Wunde ganz gut auch 18 Tage erhalten kann (die längsten Versuche mit Reincultur haben 11 Tage gedauert); dadurch wird natürlich nicht behauptet, dass sich der Bacillus auf der Wunde nicht länger erhalten könnte: diese Beschränkung der Versuchsdauer ist dadurch gegeben, dass das Röhrchen als Fremdkörper aus der Wunde eliminirt wird, die Wunde eintrocknet und der Versuch beendet werden muss.

2. Der fluorescirende Bacillus gibt, auch wenn er sich auf der Wunde in Reincultur befindet, Anlass zur Eiterentwickelung.

3. In einem Falle wurde eine mässige Accommodation an höhere Temperatur nach 7tägigem Aufenthalte des fluorescirenden Bacillus auf der Wunde in Reincultur beobachtet und bei zwei ähnlichen Fällen, bei welchen aber schon Verunreinigung stattgefunden hatte[2]), was auf folgende Art sichergestellt wurde: Aus der ursprünglichen Cultur, sowie auch aus der aus jener Wunde gezüchteten Cultur, wurden je zwei Glycerinagare bestrichen, von welchen der eine bei gewöhnlicher Temperatur, der andere bei 37° C. gehalten wurde; bei 37° C. erschien auf dem mit der aus der Wunde gezüchteten Cultur bestrichenen Agar ein üppigeres Wachsthum als auf dem mit der ursprünglichen Cultur bestrichenen Agar.

Im Ganzen und Grossen hat sich somit aus diesen Versuchen im Sinne der gestellten Frage nicht viel Positives heraus-

1) Diese Verunreinigung wurde gewöhnlich, insofern ich es untersucht habe, durch Staphylococcen bedingt.

2) In diesem Falle kann man jedoch einwenden, dass die abweichende Form auf die Wunde von Aussen gelangen konnte.

Digitized by Google

gestellt. Es ist möglich, dass die Ursache davon in dem Umstande liegt, dass ich die Versuche weiter fortzusetzen aufgehört habe, namentlich dass ich nicht solche Versuche durchgeführt habe, bei welchen dieser Bacillus längere Zeit in Reincultur auf der Wunde gehalten würde. Ich habe diese ziemlich schwierige Methode deshalb verlassen, weil ich inzwischen bestimmtere Erfolge auf leichterem Wege bekommen habe.

Da nämlich einige wichtige Momente, welche beim Aufenthalte auf der Wunde eines lebendigen Thieres zur Geltung kommen, durch das Halten der Cultur im Thermostaten auf künstlichem Nährboden nachgeahmt werden können[1]), habe ich mich zur Benützung dieser Methode entschlossen, bei welcher die Wirkung dieser Momente in sehr bedeutendem Maasse leicht verlängert werden kann und die ganze Manipulation überhaupt viel leichter ist.

Ich habe also eine Reihe von Versuchen durchgeführt, bei welchen verschiedene Stämme des fluorescirenden Bacillus auf Glycerinagar im Thermostaten bei einer Temperatur von ca. 37 °C. gehalten wurden. Diese Culturen wurden alltäglich oder in mehrtägigen Pausen aus dem Thermostaten herausgenommen, aus denselben wurden Gelatineplatten gegossen, und die ausgewachsenen Colonien wurden besonders in der Richtung untersucht, ob sie stets das typische Wachsthum in dem Gelatinestich, ihren Farbstoff, ihr Verhalten gegen niedrigere und höhere Temperaturen und ihr Wachsthum auf Agar in der Form von homogener, dicker, schleimiger Schichte behalten.

Man muss hierorts darauf aufmerksam machen, dass es nöthig ist, solche Culturen täglich auf kurze Zeit aus dem Thermostaten auch dann herauszunehmen, wenn man keine Platten giessen will, da sie sonst bei solchen höheren Temperaturen in einigen Tagen leicht zu Grunde gehen können.

Weiterhin will ich hier hervorheben, dass in den aus solchen Culturen gegossenen Platten nie eine Verunreinigung vorgekommen ist.

1) Temperaturhöhe, Feuchtigkeit.

Digitized by Google

Versuche mit dem Bacillus fluorescens liquefaciens Nr. 3.

Am 8. April wurde ein Glycerinagar bestrichen, über den Tag bei gewöhnlicher Temperatur gelassen und abends in den Thermostat (36—37° C.) eingelegt.

9. April erscheint morgens ein ziemlich bedeutender Belag. Vom 11. April an wurden fast täglich Gelatineplatten gegossen.

Die aus den am 13. April genommenen Proben an den Platten ausgewachsenen Colonien weisen im Gelatinestich ein fast vollkommen typisches Wachsthum wie der fluorescirende Bacillus auf, im Thermostat auf Agar weisen sie ein üppiges Wachsthum und einen blaugrünen Farbstoff auf.

Unter den Colonien, welche sich auf den Platten aus den am 16. April genommenen Proben entwickelt haben, wurden solche vorgefunden, welche im Gelatinestich vollkommen typisch auf Art des Bac. pyocyaneus wuchsen, Agarstriche desselben wuchsen im Thermostaten viel üppiger und bildeten viel mehr Farbstoff als bei gewöhnlicher Temperatur; am Belage erschienen auch typische irisirende trockene Flecke[1]). Nach dem Durchschütteln mit Luft bekam die verflüssigte Gelatine eine intensiv grünblaue Farbe.

Die am 27. April genommenen Proben wiesen Colonien auf, die im Gelatinestich theils typisches Wachsthum wie Fluorescens, theils wie Pyocyaneus, sowie Uebergangsformen (insgesammt jedoch mit auffallend schwachem Farbstoff) aufwiesen, sämmtliche wuchsen aber im Thermostaten viel üppiger als bei gewöhnlicher Temperatur, obzwar zwei im Gelatinestich mehr dem fluorescirenden Bacillus ähnliche Formen in gewöhnlicher Temperatur viel stärker wuchsen als die längs des Gelatinestiches wie typischer Pyocyaneus wachsende Form. Alle diese Formen wiesen auf Agar »Trockenflecke« auf.

Die Proben vom 7. Mai enthielten Colonien, welche einen merklich bläulichen Farbstoff bildeten, jedoch nur eine einzige

1) Siehe 1. Abtheilung dieser Studie (a. a. O.) S. 155.

Digitized by Google

von den vier untersuchten wuchs im Gelatinestich typisch wie der Pyocyaneus; alle wuchsen aber im Thermostaten viel üppiger als bei gewöhnlicher Temperatur.

Die angeführten aus jenem bei 36—37° C. gehaltenem Agarstrich gezüchteten Culturen behielten fast alle bisher (also über ein halbes Jahr) ihre oben beschriebenen Eigenschaften fast unverändert. Ich halte sie auf schrägem Glycerinagar bei gewöhnlicher Temperatur.

Dieser Erfolg war natülirch sehr überraschend, es ist jedoch nicht gelungen, den Versuch auf dieselbe Weise zu wiederholen und auch bei ähnlichen Versuchen mit anderen Stämmen des fluorescirenden Bacillus traten andere Erfolge ein. Zu dieser Sache will ich noch später zurückkehren. Jetzt will ich noch die mit anderen Stämmen des fluorescirenden Bacillus durch geführten Versuche anführen.

Versuche mit dem Bacillus fluorescens liquefaciens Nr. 4.

Mit diesem Bacillus wurde ein mit dem früheren vollkommen paralleler Versuch durchgeführt. Abweichende Formen wurden jedoch erst nach viel längerer Zeit beobachtet und dieselben wichen auch nicht so bedeutend von der ursprünglichen Form ab.

Von den aus der am 7. Mai genommenen Probe entwickelten Colonien bildete die eine einen bedeutenden bläulichen Farbstoff; im Gelatinestich wuchsen dieselben nach dem Typus des fluorescirenden Bacillus, nur die eine bildete längs des Stichcanales grössere Kügelchen und dieselbe wuchs auch im Thermostaten etwa gleich üppig wie bei gewöhnlicher Temperatur, obzwar der Farbstoff bei gewöhnlicher Temperatur stärker war. Der Agarbelag war auffallend dünn und wies »Trockenflecke« auf, die aber nicht irisirten. Bedeutendere Abweichungen erschienen nicht einmal nach zweimonatlichem Verbleiben im Thermostaten.

Auch diese Formen behielten ihre Eigenschaften monatelang, insoweit ich es verfolgen konnte.

Sehr interessant ist der parallele Versuch mit dem weiteren Stamme des fluorescirenden Bacillus Nr. 6, welcher aus dem Moldauwasser gezüchtet wurde.

Digitized by Google

In den Platten, welche aus der im Thermostaten gehaltenen Agarcultur dieses Bacillus gegossen wurden, traten wochenlang keine auffallend abweichenden Formen auf.

Vom 19. Mai an wurde diese Cultur mehrere Male täglich auf $^1/_2$—2 Stunden aus dem Thermostaten herausgenommen. Aus der am 19. Mai genommenen Probe entwickelten sich auf den Gelatineplatten zweierlei Colonien: die einen mit einem ganz unbedeutenden Farbstoff ohne Häutchen auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine, die anderen mit ziemlich starkem grünlichen Farbstoff; bei den letzteren war die verflüssigte Gelatine an ihrer Oberfläche mit einem Häutchen überzogen. Dieser Unterschied blieb auch nach Ueberimpfung dieser Colonien in dem Gelatinestich bestehen.

In den weiteren Tagen[1]) wurden ebenfalls ähnliche zweierlei Colonien gezüchtet, später aber fast ausschliesslich nur Colonien mit häutchenartigem Ueberzug auf der verflüssigten Gelatine.

Der Agarstrich vom 25. Mai hat sich über Nacht bei 36,5° C. sehr bedeutend entwickelt und, bei gewöhnlicher Temperatur weiter gehalten entwickelte er sich zu einem sehr trockenen, dünnen, lichtgrünen Belage in Form eines in grosse Menge von Falten gerunzelten Häutchens; diese Falten entwickelten sich nach längerer Zeit hie und da zu vollkommenen, bis mehrere Millimeter hohen, auf die Agaroberfläche senkrecht gestellten Duplicaturen.

Im Verlaufe der weiteren Züchtung dieses Stammes bei höherer Temperatur (bis zum 27. Juni) wurden solche Formen noch öfters constatirt und ebenfalls Formen, welche einen etwas feuchteren Belag mit einzelnen Trockenflecken auf dem Agar bildeten. Andere Veränderungen, namentlich vollkommene Accommodation der höheren Temperatur in dem Maasse, dass 37° C. das Optimum darstellen sollten, habe ich aber im Laufe der ganzen Zeit bei diesem Stamme nicht beobachtet, obzwar gewissermaassen eine solche Accommodation eingetreten ist, wie sich bei folgenden Versuchen gezeigt hat:

1) Die im Thermostaten gehaltene Cultur wurde immer nach einigen Tagen auf frischen Agar weiter überimpft.

Digitized by Google

Am 1. Juni wurden je zwei Agar mit der vom 19. Mai, 23. Mai, 27. Mai stammenden Cultur des im Thermostaten gehaltenen fluorescirenden Bacillus Nr. 6 bestrichen. Die einen drei Agare wurden in den Thermostaten eingelegt, die anderen drei wurden bei gewöhnlicher Temperatur gehalten.

Am 2. Juni wiesen die Agarstriche folgendes Wachsthum auf:

		Bei gewöhnlicher Temperatur	Bei 36,8° C.
2. Juni	B. fluor. liquef. Nr. 6 vom 19. V.	0	0
	B. fluor. liquef. Nr. 6 vom 23. V.	geringes Wachsthum	0
	B. fluor. liquef. Nr. 6 vom 27. V.	ziemlich bedeutendes Wachsthum ohne Farbstoffbildung	ziemlich bedeutend Wachsthum ohne Farbstoffbildung
3. Juni	B. fluor. liquef. Nr. 6 vom 19. V.	ziemlich bedeutendes Wachsthum ohne Farbstoffbildung	0
	B. fluor. liquef. Nr. 6 vom 23. V.	bedeutendes Wachsthum mit Farbstoffbildung	0
	B. fluor. liquef. Nr. 6 vom 27. V.	bedeutendes Wachsthum mit Farbstoffbildung	bedeutendes Wachsthum ohne Farbstoffbildung

Am 13. Juni wurde ein Versuch mit der Cultur vom 25. Mai, 1. Juni, 4. Juni, 9. Juni durchgeführt. Die ersten zwei wiesen bei gewöhnlicher Temperatur ein viel üppigeres Wachsthum als bei 37° C., die letzten zwei wuchsen aber auch bei 37° C. ziemlich üppig, obzwar ohne Farbstoffentwickelung. Wenn man jene Agarstriche, die sich bei gewöhnlicher Temperatur entwickelten, und dann jene aus dem Thermostaten in der angeführten Ordnung in zwei Reihen gestellt hat, bildete die erste Reihe in Bezug auf die Intensität des Wachsthums eine absteigende, die zweite eine aufsteigende Scala. — Dieser Versuch wurde nach 16 Tagen mit fast gleichem Resultate wiederholt.

Wichtig ist, dass jene vom 25. Mai stammende, auf Agar in der Form eines trockenen runzeligen Häutchens wachsende Cultur diese ihre Eigenschaften durch 5 Monate unverändert behalten hat.

Digitized by Google

Nach wiederholter Ueberimpfung bildete sich aber endlich gegen Ende November desselben Jahres ein zwar dünner aber glatter und schleimiger Belag, welcher nur in der Mitte einen mehr trockenen gefalteten Streifen besass.

Aehnliche Versuche habe ich noch mit einigen weiteren Stämmen des fluorescirenden Bacillus unternommen. Ich konnte dieselben jedoch wegen Anhäufung anderer Arbeiten weiter nicht verfolgen. Während mehrerer Wochen anfangs, soweit ich die Versuche noch verfolgte, konnte ich keine ähnlichen Veränderungen wie in den früheren Versuchen constatiren.

Versuche über das Verhalten des Bacillus pyocyaneus „unter saprophytischen Verhältnissen".

Die Arrangirung dieser Versuche war natürlich schon viel leichter. Es handelte sich kurz darum, den Bac. pyocyaneus im Wasser unter Verhältnissen zu halten, welche möglichst nahe wären denjenigen, welchen dieser Bacillus in der Natur unterliegt.

Zu diesem Zwecke wurde die Methode gewählt, dass der Bac. pyocyaneus in mit Wasser gefüllten Glasölbchen entweder zugleich mit anderen Bacterien oder allein unter verschiedenen Verhältnissen gehalten wurde.

Hieher gehören vor Allem auch meine in der I. Abtheilung dieser Studie a. a. O. publicirten Versuche, welche zum Zwecke der Erforschung unternommen worden sind, wie sich dieser Bacillus im Wasser unter verschiedenen Verhältnissen im Vergleiche zum Bac. fluorescens liquefaciens zu erhalten und eventuell zu vermehren vermag

Ich beabsichtigte bei denselben neben der angeführten Aufgabe noch zu verfolgen, ob der typische Bac. pyocyaneus unter solchen Verhältnissen seine Eigenschaften unverändert bewahrte.

Bei diesen Versuchen wurden drei typische Stämme des Bac. pyocyaneus verwendet, welche im Wasser gehalten wurden und zwar theils unter Lichtzutritt, theils im Dunkeln, unter erschwertem Luftzutritt oder bei Durchtreiben einer kleineren Luftmenge durch das betreffende Wasser, bei Anwesenheit kleinerer oder grösserer Quantität von organischen Stoffen; bei allen diesen

Digitized by Google

Versuchen habe ich fast durchwegs keine bedeutendere Veränderung der Eigenschaften dieser Bacterien beobachtet.[1])

Von der Idee aber ausgehend, dass die Ursache dieses negativen Erfolges der Versuche in dem Umstande liegen könnte, dass bei meinen Versuchen die natürlichen Verhältnisse nicht genügend nachgeahmt worden sind, bin ich auf die Vermuthung gekommen, dass zu meinen Proben vielleicht die Luft keinen genügenden Zutritt hat. Ich habe mich deshalb entschlossen, durch diese Proben Luft möglichst ununterbrochen mittels einer einfachen Vorrichtung, deren Beschreibung folgt, durchzutreiben:

Aus einem hochgestellten, mit einem Abflussrohr versehenen Reservoir, in welches aus der Wasserleitung stets Wasser zugeführt wurde, wurde mittels eines Röhrchens Wasser in eine Flasche geführt. Diese Flasche war mit einem mit vier Oeffnungen versehenen Stöpsel luftdicht geschlossen: durch eine von diesen Oeffnungen wurde aus jenem Reservoir ununterbrochen Wasser zugeführt, wodurch die Luft aus dieser Flasche verdrängt wurde und zwar durch die zweite Oeffnung im Stöpsel, aus welcher sie weiter mittels eines Röhrchens geführt wurde; dieses Röhrchen war durch ein Wasserventil unterbrochen, welches nur das Austreten der Luft aus der Flasche durch ein sterilisirtes Wattefilter in die betreffende zu lüftende Probe erlaubte. Durch die dritte im Stöpsel befindliche Oeffnung stieg aus der Flasche (und zwar bis vom Boden) ein Heberrohr, dessen absteigender Schenkel in den Wasserleitungsausguss geführt wurde; durch diesen Heber hat sich die Flasche immer nach Anfüllung mit

1) Nur in dem Versuche, dessen Verlauf durch die Tabelle III veranschaulicht ist, wies der Bac. pyocyaneus Nr. 4 aus der im Dunkeln gehaltenen Probe auf den aus derselben gegossenen Gelatineplatten, etwa nach zweimonatlicher Dauer des Versuches, ein auffallend verändertes Wachsthum auf: Die Verflüssigung trat sehr spät ein, so dass diese Colonien zuerst auf Art der typhoiden Bacterien sich entwickelten, und erst nach längerer Zeit trat in der Mitte des dünnen rundlichen Belages Verflüssigung ein, welche sich dann ziemlich rasch bis zur Peripherie verbreitete. Da jedoch in dem betreffenden Wasser auch andere — obzwar nicht verflüssigende — Bacterien anwesend waren (siehe die Schilderung des Versuches) und diese Erscheinung vereinzelt da stand, hat sie allein keine besondere Bedeutung, weshalb ich sie nicht weiter verfolgte.

Digitized by Google

Wasser selbstthätig entleert[1]), wobei neue Luft in die Flasche durch die vierte Stöpselöffnung eingesogen wurde; diese Oeffnung wurde mit einem Wasserventil verbunden, welches nur den Lufteintritt in die Flasche erlaubte. Der Apparat war so eingerichtet, dass die ununterbrochene Luftdurchtreibung durch die Probe immer etwa $1^1/_4$ Stunde dauerte, worauf sie auf 10 Minuten unterbrochen wurde, während welcher Zeit frische Luft in die Flasche gesogen wurde, dann wieder Luftdurchtreibung eintrat u. s. w.; diese zwei Phasen haben fortwährend gewechselt.

Zuerst habe ich einen solchen Versuch mit beständigem Luftdurchtreiben mit einer Probe durchgeführt, welche ganz so hergestellt war wie jene in dem auf S. 168 der I. Abtheilung dieser Studien (a. a. O.) beschriebenen Versuche, mit der Ausnahme, dass in derselben alle drei Stämme des Bac. pyocyaneus (Nr. 3, 4, 5) enthalten waren. Ich wollte mich nämlich überzeugen, ob die in jenen Proben (unter unbedeutendem Luftzutritt) ihre charakteristischen Eigenschaften sehr lange behaltenden Stämme des Bac. pyocyaneus irgend welche Abweichungen von der ursprünglichen Form bei reichlicherem Luftdurchtreiben unter sonst gleichen Verhältnissen aufweisen würden.

Durch diese Probe wurden in den ersten 14 Tagen, parallel mit jenen Proben des oben erwähnten Versuches, nur 200 ccm Luft täglich getrieben; die mit diesem Wasser bestrichenen Agare, im Thermostaten (bei 36,5° C.) in der Nacht gehalten, wiesen eine Entwickelung von starkem, blaugrünem Farbstoff auf. Am 19. März begann ich, die Lüftung der Proben ununterbrochen Tag und Nacht durchzuführen und zwar etwa 5—6 l pro 24 Stunden, welches Quantum am 22. März auf 10—11 l erhöht wurde. Die aus der Probe am 22. März gemachten Agarstriche[2]) liessen im Thermostaten eine ziemlich reichliche Entwickelung von intensiv

1) Diese Entleerung geschieht natürlich nur dann, wenn der Heber genug ergiebig ist, so dass der Abfluss stärker ist als der Zufluss.

2) Immer wurden drei Agare durch »progressive Verdünnung« wieder mittels jener geaichten Platinöse bestrichen. (Siehe Anmerkung S. 167 der I. Abtheilung dieser Studien.)

Digitized by Google

grünen Farbstoff bildenden Colonien erscheinen. Ein ähnlicher Befund wurde auch bei den Agarstrichen vom 27. März gemacht. Die Agarstriche vom 29. März wiesen über Nacht, im Thermostaten gehalten, ein ziemlich reiches Wachsthum auf, jedoch nur auf dem dichtesten erschien eine schwache Spur von Farbstoff; Nachmittag wurde auch in der zweiten Verdünnung Farbstoff erkennbar, über die zweite Nacht auch in der dritten. Die am 31. März genommene Probe zeigte folgende Entwickelung: Ueber Nacht entwickelten sich im Thermostaten nur auf dem dichtesten Striche zahlreiche kleine Colonien, auf keinem Agar fand sich aber eine Spur von Farbstoff vor, über die zweite Nacht war der dichteste Ausstrich deutlich gefärbt, in der zweiten Verdünnung war eine kleine Spur von Farbstoff zu erkennen. Die Probe vom 1. April wies ähnliche Verhältnisse auf, ebenso auch die weiteren Proben und zwar auch dann, nachdem das durchgetriebene Luftquantum am 4. April auf 10 l täglich erhöht worden ist. Am 19. April wurde die Luftdurchtreibung eingestellt. Die am 29. April entnommene Probe wies über die Nacht auf dem Agar ein ziemlich starkes Wachsthum mit deutlichem bläulichgrünen Farbstoff auf.

Dieser Erfolg des Versuches spricht in dem Sinne, dass bei dem Bac. pyocyaneus durch den Aufenthalt im Wasser unter eben beschriebenen Verhältnissen seine Fähigkeit, den blaugrünen Farbstoff zu erzeugen, sowie sein üppiges Wachsthum bei höherer Temperatur geschwächt werden kann; das hat mich dazu bewegt, diesen Versuch mit den Proben zu wiederholen, in welchen der Bac. pyocyaneus allein sein sollte, und das Verhalten dieses Bacillus parallel in zwei gleichen Proben unter einander zu vergleichen, welche von einander nur darin abweichen sollten, dass die eine von ihnen gelüftet würde, die andere dagegen nicht. Dadurch sollte entschieden werden, ob jene Veränderung wirklich eben durch die Lüftung bedingt wurde.

Zu diesem Zwecke wurden am 10. April zwei, sterilisirtes Wasserleitungswasser enthaltende Kolben (300 ccm) mit gleicher Menge verflüssigter, aus achttägiger Cultur des Bac. pyocyaneus Nr. 6 stammenden Gelatine inficirt. Einer von diesen Kolben

Digitized by Google

wurde mit gewöhnlichem Wattepfropf geschlossen, der andere mit einem Wattepfropf, in dessen Längsachse ein zum Lufteintreiben in die Probe dienendes Glasröhrchen geführt wurde (in der Weise, wie es auf S. 168 der I. Abtheilung dieser Studien beschrieben worden ist). Nach gründlichem Umschütteln wurden in üblicher Weise Platten gegossen (auf welchen sich typische Colonien des Bac. pyocyaneus entwickelten), worauf beide Kolben im Laboratorium auf lichtem Platze neben einander gestellt worden sind und durch jenen, welcher mit dem Röhrchen versehen war, zuerst etwa 20—25 l der durch Filtration sterilisirten Luft und zwar nur während des Tages getrieben wurden. Vom 19. April an wurde die Lüftung Tag und Nacht ausgeführt, was im Ganzen etwa 50 l in 24 Stunden ausmachte. Von beiden Proben wurden zuerst täglich, später in längeren Pausen, Gelatineplatten gegossen[1]); die an denselben ausgewachsenen Colonien wurden untersucht, ob sie stets unverändert intensiven Farbstoff bilden, und ob sie stets das typische Wachsthum im Gelatinestich bewahren. Zu diesem Zwecke wurden von den Gelatineplatten immer aus einer Colonie je ein Agarstrich und je ein Gelatinestich gemacht. Die beiliegende Tabelle veranschaulicht den Verlauf des Versuches.

Datum der Probeentnahme	Die ventilirte Probe		Die nichtventilirte Probe	
	Farbstoffbildung	längs des Canals des Gelatinestichs entwickelt sich auf die Weise, welche typisch ist für den	Farbstoffbildung	längs des Canals des Gelatinestichs entwickelt sich auf die Weise, welche typisch ist für den
10. April	stark	—	stark	—
11. »	stark	—	stark	—
12. »	stark	—	stark	—
13. »	schwächer	—	stark	—
16. »	schwächer	—	stark	—
19. »	schwächer	Bac. pyocyaneus	stark	Bac. pyocyaneus
20. »	bedeutend schwächer	Bac. fluorescens	stark	Bac. pyocyaneus
21. »	bedeutend schwächer	Bac. pyocyaneus	stark	Bac. pyocyaneus
22. »	bedeutend schwächer	Bac. fluorescens	stark	Bac. pyocyaneus

1) In den Platten ist niemals irgend eine Verunreinigung aufgetreten.

Digitized by Google

Während der ganzen Dauer dieses Versuches[1]) trat keine Veränderung in dem Sinne ein, dass die Wachsthumsenergie dieses Bacillus bei 37° C. geschwächt würde, was an den im Thermostaten gehaltenen Agarstrichen constatirt wurde.

Da der eine Kolben aus diesem Versuche gegen Ende April zerschlagen wurde, veranstaltete ich am 4. Mai einen neuen Versuch mit dem Bac. pyocyaneus Nr. 3, goss von Neuem aus der ventilirten, sowie aus der nicht ventilirten Probe in kürzeren oder längeren Pausen Platten und untersuchte, ob die in beiden Proben gehaltenen Mikroorganismen ihre typischen Eigenschaften unverändert behalten. Es wurden etwa 30 l Luft in 24 Stunden, vom 27. Juni an etwa 40—50 l durchgetrieben. Während der ganzen Dauer des Versuches habe ich keine charakteristischen Umänderungen der Eigenschaften dieser Bacillen beobachtet.

Im Laufe dieses Versuches, nachdem keine der früher angeführten ähnlichen Veränderungen eintraten, veranstaltete ich am 8. Juni von Neuem einen solchen Versuch mit dem Bac. pyocyaneus Nr. 6. Durch die ventilirte Probe wurden täglich etwa 40—50 l, vom 30. Juni an etwa 100 l Luft getrieben.

Auch in diesem Versuche konnte ich lange Zeit hindurch keine Veränderungen beobachten; bloss bei sehr vielen, aus der ventilirten Probe stammenden Colonien konnte man eine bedeutende Abschwächung des blaugrünen Farbstoffes beobachten; jedoch solche Colonien entwickelten sich, obzwar in viel kleinerer Menge (besonders nach längerer Versuchsdauer) auch aus der nicht ventilirten Probe.

Erst die am 28. August genommenen Proben wiesen sehr auffallende Veränderungen auf. Eine aus dem nicht ventilirten Kolben stammende Colonie zeigte auf dem bei 37° C. gehaltenen

1) Dieser Versuch musste in den ersten Julitagen unterbrochen werden, da der die ventilirte Probe enthaltende Kolben zerschlagen wurde. Die nicht ventilirte Probe habe ich noch weiter beobachtet, und es ist interessant, dass noch im November, d. h. nach einem halben Jahre, die aus ihr gezüchteten Colonien keine merklicheren Abweichungen aufwiesen (mit der Ausnahme, dass sie fast alle auffallend rein himmelblauen Farbstoff zum Unterschiede von dem ursprünglichen grünblauen bildeten).

Digitized by Google

Agarstriche viel reichlichere Farbstoffbildung als bei der gewöhnlichen Temperatur auf dem gleichen und gleichzeitig bestrichenen Agar. Die von dem ventilirten Kolben herrührenden Colonien (2) wiesen ein umgekehrtes Verhalten auf; diese Colonien zeigten ausserdem bei gewöhnlicher Temperatur auf dem Agar eine auffallende Abweichung: es entwickelte sich nämlich auf der Agaroberfläche ein dünnes, trockenes, zusammenhängendes Häutchen[1]), welches nur eine Fortsetzung des das Condensationswasser überziehenden Häutchens bildete; dieses Häutchen hat sich bei weiterer Entwickelung der Cultur in zahlreiche feine, bis 1 mm und mehr hohe Fältchen zusammengelegt; der gleichzeitig im Thermostaten bei 37° C. gehaltene Agarstrich zeigte dagegen ganz typisches Wachsthum.

Aehnliche Verhältnisse erschienen auch auf den am 15. September entnommenen Proben (es wurden zur Untersuchung je zwei Colonien aus der ventilirten sowie nicht ventilirten Probe benützt).

Die von der ventilirten Probe stammenden Colonien wiesen am Agarstrich im Thermostaten auch nach 10 Tagen sehr unbedeutende Bildung von blaugrünem Farbstoff auf, während die gleichzeitig bei gewöhnlicher Temperatur gehaltenen Agarstriche eine sehr bedeutende Farbstoffentwickelung aufwiesen. Beide bei gewöhnlicher Temperatur gehaltenen Striche haben sich wiederum in Form eines trockenen runzeligen Häutchens entwickelt.

Aber auch einzelne aus der nicht ventilirten Probe entnommene Colonien zeigten ähnliche Abweichungen in Bezug auf die Farbstoffintensität bei verschiedenen Temperaturen; ja eine von den beiden zur Untersuchung benützten Colonien zeigte ebenfalls jene auffallende Abweichung in ihrer Entwickelung auf Agar bei gewöhnlicher Temperatur (trockenes runzeliges Häutchen).

Aehnliche Verhältnisse herrschten auch in den am 2. October entnommenen Proben. Die aus der ventilirten Probe entnommenen

1) In der Regel bildet Bac. pyocyaneus auch einen ziemlich dünnen Ueberzug auf dem Agar, jedoch nicht ein zusammenhängendes Häutchen, welches in zusammenhängenden grösseren Stücken entfernt werden könnte.

Digitized by Google

Colonien bildeten stärkeren Farbstoff bei gewöhnlicher Temperatur, die aus der nicht ventilirten Probe entnommenen Colonien dagegen im Thermostaten; alle bildeten aber bei gewöhnlicher Temperatur auf dem Agar ein trockenes runzeliges Häutchen, obzwar dies bei den aus der nicht ventilirten Probe entnommenen Colonien viel weniger ausgeprägt war.

Ebenfalls die am 28. Oktober entnommenen Proben verhielten sich ähnlicher Weise. Das Wachsthum in der Form eines runzeligen Häutchens auf Agar bei gewöhnlicher Temperatur erschien bei beiden von der ventilirten Probe stammenden Culturen und nur bei der einen von der nicht ventilirten Probe stammenden Cultur, während die andere auf die typische Art wie im Thermostaten sich entwickelte.

Um mich zu überzeugen, ob sich solche Umänderungen auf längere Zeit erhalten, habe ich noch folgende Versuche ausgeführt.

Am 6. October wurden je zwei Agare mit ursprünglicher Cultur des Bac. pyocyaneus Nr. 6, weiter mit den aus dem ventilirten sowie nichtventilirten Kolben am 28. August, 15. September, 2. October entnommenen Probe gezüchteten Culturen bestrichen und aus allen wurden gleichzeitig Gelatinestiche gemacht. Je ein Agar von jeder Cultur wurde in den Thermostaten (37° C.) eingelegt, die anderen Agare, sowie die Gelatinestiche wurden bei gewöhnlicher Temperatur gehalten.

Das Verhalten dieser Culturen gegenüber den verschiedenen Temperaturen und die Wachsthumsart längs des Gelatinestiches ist in der folgenden Uebersicht angeführt:

Wachsthum in dem Gelatinestich (nach 10 Tagen): Die ursprüngliche Cultur weist längs des Stichcanales ein ganz typisches Wachsthum auf. Die anderen wachsen fast sämmtlich typisch wie der fluorescirende Bacillus, mit Ausnahme einer (Nr. 3) am 15. September aus der nicht ventilirten Probe stammenden Cultur, welche das typische Wachsthum wie der Bac. pyocyaneus, sowie drei Culturen vom 2. October, welche ein gewisses Uebergangsverhalten zeigten (Nr. 1, 2, 3).

Digitized by Google

Wachsthum auf dem Agar: Alle Proben haben sich im Thermostaten schneller entwickelt als bei gewöhnlicher Temperatur, das Verhalten des Farbstoffes bei verschiedenen Temperaturen ist in der untenstehenden Tabelle angeführt. Im Thermostaten haben alle Culturen den typischen Belag gebildet, während bei der gewöhnlichen Temperatur die verschiedenen Culturen folgendes Verhalten zeigten:

Die Cultur gezüchtet	Aus der ventilirten Probe	Aus der nichtventilirten Probe
Am 28. VIII.	Nr. 1 } ein trockenes runzeliges Nr. 2 } Häutchen	Nr. 3 den typischen Belag
» 15. IX.	Nr. 1 } ein trockenes runzeliges Nr. 2 } Häutchen	Nr. 3 ein trockenes runzeliges Häutchen Nr. 4 den typischen Belag
» 2. X.	Nr. 1 } ein trockenes runzeliges Nr. 2 } Häutchen	Nr. 3 } ein trockenes runzeliges Nr. 4 } Häutchen

Verhalten des Farbstoffes bei gewöhnlicher und bei höherer Temperatur: Die 10 Tage alten Strichculturen (Glycerinagar) zeigten:

Ursprüngliche Cultur	Bei gewöhnlicher Temperatur — schwacher blauer Farbstoff		Im Thermostaten (37° C.) — ein starker blauer Farbstoff	
Cultur	aus der ventilirten Probe	aus der nichtventilirten Probe	aus der ventilirten Probe	aus der nichtventilirten Probe
vom 28. VIII.	Nr. 1 ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 2 ziemlich starker blauer Farbstoff	Nr. 3 fast gar kein blauer Farbstoff	Nr. 1 ein schwach. blauer Farbstoff Nr. 2 fast gar kein blauer Farbstoff	Nr. 3 ein starker blauer Farbstoff
vom 15. IX.	Nr. 1 fast gar kein blauer Farbstoff Nr. 2 ein starker blauer Farbstoff	Nr. 3 ein schwach. blauer Farbstoff Nr. 4 fast gar kein blauer Farbstoff	Nr. 1 ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 2 kein blauer Farbstoff	Nr. 3 ein starker blauer Farbstoff Nr. 4 ein ziemlich starker blauer Farbstoff

Digitized by Google

Cultur	aus der		aus der	
	ventilirten Probe	nichtventilirten Probe	ventilirten Probe	nichtventilirten Probe
vom 2 X.	Nr. 1 fast gar kein blauer Farbstoff Nr. 2 ein unbedeutend. blauer Farbstoff	Nr. 3 ein unbedeutend. blauer Farbstoff Nr. 4 ein unbedeutend. blauer Farbstoff	Nr. 1 kein blauer Farbstoff Nr. 2 kein blauer Farbstoff	Nr. 4 ein ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 3 ein ziemlich bedeutender blauer Farbstoff

Ein gleicher Versuch wurde mit denselben Culturen wieder am 28. October unternommen, wobei noch die am 25. October aus der ventilirten wie nichtventilirten Probe gezüchteten Culturen zugenommen worden sind.

Das Wachsthum in den Gelatinestichen war wieder ähnlich wie bei dem vorigen Versuche.

Ebenfalls das Wachsthum auf dem schrägen Agar wies ähnliche Verhältnisse auf: Im Thermostaten wuchsen alle Culturen schneller als bei der gewöhnlichen Temperatur und zwar in Form eines typischen Belages wie die ursprüngliche Cultur; bei der gewöhnlichen Temperatur entwickelten sich aber vollkommen so wie bei dem vorigen Versuche, bei den einen Culturen typische Beläge, bei den anderen ein trockenes runzeliges Häutchen; bei den neu (am 25. October) gezüchteten Culturen entwickelte sich:

Cultur gezüchtet	
aus der ventilirten Probe	aus der nichtventilirten Probe
Nr. 1 } ein trockenes runzeliges Häutchen Nr. 2 }	Nr. 3 ein trockenes runzeliges Häutchen Nr. 4 ein typischer Belag

Umstehende Tabelle zeigt das Verhalten des Farbstoffes bei gewöhnlicher und bei höherer Temperatur: Die 10 Tage alten Strichculturen (Glycerinagar) zeigten:

Digitized by Google

Ursprüngliche Cultur	Bei gewöhnlicher Temperatur		Im Thermostaten (37° C)	
	ein ziemlich starker blauer Farbstoff		ein starker blauer Farbstoff	
	aus der		aus der	
Cultur	ventilirten Probe	nichtventilirten Probe	ventilirten Probe	nichtventilirten Probe
vom 28. VIII.	Nr. 1 ein ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 2 ein bedeutend starker blauer Farbstoff	Nr. 3 ein schwach. blauer Farbstoff	Nr. 1 ein schwächerer blauer Farbstoff als bei gewöhnl. Temp. Nr. 2 ein schwach. blauer Farbstoff	Nr. 3 ein bedeutend starker blauer Farbstoff
vom 15. IX	Nr. 1 ein ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 2 ein ziemlich starker blauer Farbstoff	Nr. 3 ein bedeutender blauer Farbstoff Nr. 4 ein ziemlich bedeutend blauer Farbstoff	Nr. 1 ein ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 2 ein ziemlich starker blauer Farbstoff	Nr. 3 ein starker blauer Farbstoff Nr. 4 ein ziemlich bedeutend. blauer Farbstoff
vom 2. X	Nr. 1 kein blauer Farbstoff Nr. 2 ein bedeutender blauer Farbstoff	Nr. 3 ein ziemlich bedeutend. blauer Farbstoff Nr. 4 kein blauer Farbstoff	Nr. 1 ein schwach. blauer Farbstoff Nr. 2 ein schwach. blauer Farbstoff	Nr. 3 ein bedeutender blauer Farbstoff Nr. 4 ein bedeutender blauer Farbstoff
vom 25. X.	Nr. 1 ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 2 schwacher blauer Farbstoff	Nr. 3 ein schwach. blauer Farbstoff Nr. 4 ein schwach. blauer Farbstoff	Nr. 1 ein ziemlich bedeutend. blauer Farbstoff Nr. 2 ein schwach. blauer Farbstoff	Nr. 3 ein ziemlich starker blauer Farbstoff Nr. 4 ein starker blauer Farbstoff

Es hat sich also gezeigt, dass wieder in einigen Fällen die erworbene Veränderung sich lange erhält (Wachsthum in der Form eines trockenen runzeligen Häutchens auf Agar-Agar), während in anderen Fällen eine solche nur eine kurze Zeit erhalten bleibt (das Verhalten des Farbstoffes einiger Culturen gegenüber der gewöhnlichen sowie höheren Temperatur).

Sehr auffallend ist die Thatsache, dass, wie es in einem von den früher angeführten Versuchen angegeben worden ist, auch ein Stamm des fluorescirenden Bacillus die Fähigkeit zum

Digitized by Google

Wachsthum auf Agar-Agar in der Form eines trockenen runzeligen Häutchens, natürlich unter entgegengesetzten Verhältnissen, nämlich bei Aufbewahrung bei höherer Temperatur, bekommen hat. Vergleicht man also diese zwei Versuche unter einander, so sieht man, dass diese zwei Typen von Mikroorganismen — unter dem Einflusse von gewissermassen conträren Umständen — an einem gemeinsamen Punkte zusammengekommen sind. Der Unterschied in Bezug auf die Ueppigkeit des Wachsthums bei verschiedenen Temperaturen hat sich aber bei beiden in der ursprünglichen Weise erhalten.

Eine der interessantesten aus der Analyse der angeführten Versuche hervorgehende Erscheinung ist jene, dass nicht einmal unter ganz gleichen Umständen — insofern dieselben beim Versuche zu beherrschen sind — gleiche Erfolge eintreten. Der Bac. pyocyaneus wurde in Reincultur im Wasser gehalten; auf der aus diesem Wasser gegossenen Gelatineplatte hat sich eine Reincultur entwickelt, aber eine Colonie von dieser Platte bildete auf Agar den typischen Belag und starken Farbstoff, eine andere wuchs aber in der Form eines trockenen runzeligen Häutchens und bildete schwachen Farbstoff. Ebenfalls aus den bei 37° C. gehaltenen Agarstrichen des florescirenden Bacillus entwickelten sich auf derselben Gelatineplatte in dieser oder jener Eigenschaft von einander abweichende Colonien, wie dies bei der Schilderung der betreffenden Versuche angeführt worden ist.

Die Sicherstellung dieser Thatsache muss man aus dem Grunde für sehr wichtig halten, weil daraus hervorgeht, dass die solche Veränderungen bedingenden Momente durch unsere Versuchsmethoden sehr schwer im Detail zu beherrschen sind. Denn man kann sich schwer noch gleichere Umstände denken als die bei meinen Versuchen, bei welchen sich aus demselben kleinen Theilchen des Agarbelages (oder des inficirten Wassers) an derselben Gelatineplatte abweichende Formen entwickelt haben.

Vielleicht kann man in dieser Beziehung die oben angeführte Beobachtung von Zupnik (aus der Reincultur des Diphtheriebacillus wurden zwei abweichende Typen gezüchtet) für eine analoge Erscheinung halten.

Digitized by Google

In den eben angeführten Umständen muss man dann auch Erklärung zu der Erscheinung suchen, dass ich, obzwar ich die Versuche auf gleiche Weise zu wiederholen bestrebt war, doch keine gleichen Resultate erhalten habe, und zwar nicht nur bei verschiedenen Stämmen desselben Mikroorganismus, sondern auch nicht einmal dann, wenn ich bei Wiederholung des Versuches denselben Stamm wie früher benützt hatte. Man muss hier selbstverständlich auch den Einwand erwägen, dass jene abweichenden Formen vielleicht von der Verunreinigung der Cultur herrühren könnten.

In dieser Beziehung führe ich vor Allem an, dass die benützten Culturen durch mehrmaliges fortschreitendes Giessen von Gelatineplatten reingezüchtet worden sind. Ausserdem habe ich selbst bei den betreffenden Versuchen nie irgend eine Verunreinigung durch ganz abweichende Formen beobachtet.

Aus den angeführten Versuchen muss man Folgendes schliessen:

1. Dass sich einzelne differenzielle Eigenschaften typischer Stämme des Bac. pyocyaneus sowie des Bac. fluorescens liquefaciens wechselseitig umändern können und zwar vollständig oder nur zu einer Uebergangseigenschaft oder endlich, dass diese Mikroorganismen Eigenschaften acquiriren können, welche überhaupt weder für den einen noch für den anderen als charakteristisch beschrieben sind.

   Insbesondere der letzte von den angeführten Umständen scheint in Bezug darauf wichtig zu sein, dass er einige schwache Seiten der bacteriologischen Diagnostik erklärt, und dass er darauf hinweist, dass die Ursache davon nicht nur darin zu suchen ist, dass es eine zu grosse Anzahl von Mikroorganismen gibt, sondern auch in dem Umstande, dass sich die zur Diagnose benützten Eigenschaften in sehr bedeutendem Maasse umändern können.

2. Die so erworbenen Umänderungen können sich sehr lange Zeit erhalten.

Digitized by Google

3. Die Einflüsse, durch deren Wirkung solche Umänderungen vor sich gehen können, können im Detail auf Grund der beschriebenen Versuche nicht angeführt werden.

   Man kann nur mit einer ziemlich grossen Wahrscheinlichkeit anführen, dass ein wichtiger Einfluss in dieser Beziehung der höheren Temperatur einerseits, der Anwesenheit von reichlicher Luft andererseits zukommt.

Dem Herrn Professor Kabrhel, der mir zu dieser Arbeit Anregung gab und mich bei derselben allseitig unterstützt hat, sage ich hiermit meinen innigsten Dank.

Anmerkung (bei der letzten Correctur eingefügt): Zwei Stämme des Bac. pyocyaneus Nr. 6, welche am 28. VIII. 1898 aus der ventilirten Probe (siehe S. 24) gezüchtet, auf schiefen Agar in Form des trockenen runzeligen Häutchens wuchsen, haben bei fortwährender Weiterzüchtung auf Agar diese eigenthümliche Wachsthumsart behalten; jetzt aber in der letzten Zeit sind sie zur ursprünglichen typischen Form zurückgekehrt und wachsen ebenso wie der gleichzeitig aus der nicht ventilirten Probe herausgezüchtete Stamm. November 1899.

Digitized by Google

Zur Biologie der peptonisirenden Milchbacterien.

Von

Dr. **Otto Kalischer**

in Berlin

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

Es ist für die Praxis von grosser Wichtigkeit, die in der Milch vorkommenden Bacterien genau kennen zu lernen und dieselben nach ihrer Isolirung in ihrem Verhalten eingehend zu erforschen, besonders diejenigen, welche selbst höheren Temperaturgraden längere Zeit erfolgreich widerstehen. Es ist in hohem Grade wahrscheinlich, dass manche dieser Bacterien im Stande sind, nach ihrer Aufnahme und Vermehrung im menschlichen Verdauungstractus Krankheitserscheinungen hervorzurufen und besonders infectiöse Darmkatarrhe zu erzeugen, welche das Leben vornehmlich jugendlicher Individuen so sehr gefährden.

Unter den Arten von Bacterien, welche nach dem Erhitzen der Milch auf 90 bis 95° nicht zu Grunde gehen, lassen sich nach Flügge[1]) zwei Gruppen unterscheiden.

1. Die obligat anaëroben, die Milch meist stark zersetzenden Bacterien, mit ziemlich widerstandsfähigen Sporen und 2. aërobe oder facultativ anaërobe Bacterien, welche der Gruppe der sog. Heu- oder Kartoffelbacillen zuzuzählen sind und hier am besten als peptonisirende Milchbacterien bezeichnet werden, mit ausserordentlich resistenten Sporen.

Beiden Gruppen kommt die Fähigkeit zu, Milch bei gewöhnlicher Reaction durch ein labartiges Ferment zur Gerinnung

1) Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisirung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 17, S. 272 ff.

Digitized by Google

zu bringen, und weiter alsdann durch ein peptonisirendes Ferment das gefällte Caseïn wieder aufzulösen. Diese, beiden Gruppen gemeinschaftliche Eigenschaft ist der Grund gewesen, dass man sie mit einander verwechselte und den Bacterien beider Gruppen auch die Fähigkeit zusprach, die Buttersäuregährung hervorzurufen, bis man erkannte, dass dieser Vorgang nur den Mitgliedern der ersten Gruppe, den anaëroben Bacterien, zukommt. Die vorliegenden Untersuchungen wurden ausschliesslich mit einem Bacterium der zweiten Gruppe angestellt; dasselbe wurde in Reincultur aus der Milch gelegentlich der Versuche gewonnen, welche Professor Thierfelder und Dr. Nuttall bei ihren Arbeiten über thierisches Leben ohne Bacterien ausgeführt haben. Bei Sterilisirungsversuchen der Milch hatte dieses Bacterium eine ausserordentliche Widerstandsfähigkeit gegenüber der längeren Einwirkung des strömenden Wasserdampfes gezeigt.

Allgemeine Charakteristik des Bacteriums.

Was die allgemeine Charakteristik dieser Bacterienart betrifft, so handelt es sich um grosse Stäbchen, welche auf Agaragar schnell mit Faltenbildung wachsen, in der Milch besonders zu langen Fäden auswachsen, in welchen man oft nur schwer ihre Zusammensetzung aus Stäbchen erkennt, in den Stäbchen lassen sich vornehmlich in älteren Culturen Sporen unterscheiden. Auf Kartoffeln wächst das Bacterium gleichfalls mit Faltenbildung; der Belag auf Kartoffeln hat eine gelbbräunliche Farbe. Das Bacterium ist aërob: bei gänzlichem Luftabschluss erfolgt in gewöhnlicher Bouillon nicht das mindeste Wachsthum. Das Bacterium weist viel Aehnlichkeit mit einigen von den von Löffler,[1] Hueppe[2] und Flügge[3] beschriebenen peptonisirenden Milchbacterien auf; ob es mit einem derselben identisch ist, lässt

1) Löffler, Ueber Bacterien in der Milch. Berliner klinische Wochenschrift, 1887, S. 607 ff. und 629 ff.

2) Hueppe, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamt, Berlin 1884, Bd. 2, S. 309 ff.

3) Flügge, s. o.

Digitized by Google

sich bei der weitgehenden Uebereinstimmung, welche diese Bacterienarten unter einander in Bezug auf Wachsthum und Aussehen bei gewöhnlichen Bedingungen zeigen, schwer entscheiden. Wird das Bacterium in sterilisirte Kuhmilch gebracht, so lässt sich nach ca. zweitägigem Stehen im Brutschrank (bei 35 bis 40°) die erste Veränderung bemerken. Unter dem oberen Rande der Flüssigkeit sieht man eine helle Zone auftreten, die allmählich sich vergrössert und nach unten zunimmt. Nach drei bis vier Tagen hat sich ein Niederschlag abgesetzt, welcher etwa die Hälfte der Flüssigkeit einnimmt; über demselben befindet sich eine gelbbräunliche, zunächst noch etwas getrübte, wolkige Flüssigkeit; auf der Oberfläche derselben hat sich die Rahmschicht abgesetzt. Allmählich nimmt im Lauf der nächsten zwei Wochen der Niederschlag an Menge ab; gleichzeitig bemerken wir, dass die Flüssigkeit klarer wird. Es kommt so zu einer Auflösung des Niederschlages. Bei einem bestimmten Zeitpunkt, der wechselt, hört dieser Auflösungsprocess auf, so dass häufig ein mehr oder minder grosser Theil des Niederschlags, selbst nach Verlauf längerer Zeit, ungelöst zurückbleibt. Die Flüssigkeit, welche klar ist und eine dunkelbraune Farbe hat, reagirt stark alkalisch in Folge der reichlichen Ammoniakentwickelung und gibt Biuretreaction. Oft kann man in den geimpften Kolben drei Schichten deutlich unterscheiden:

1. eine obere Fettschicht, gemengt mit etwas ungelöstem Caseïn, 2. eine mittlere Schicht, welche durch die klare, dunkelgelb gefärbte Flüssigkeit dargestellt wird, und 3. eine Schicht ungelösten Caseïns, welche an Quantität in den verschiedenen Versuchen sehr wechselt.

Die Veränderungen der einzelnen Bestandtheile der Milch bei Einwirkung des Bacteriums.

Milchzucker.

Von besonderem Interesse erschien es, zu erfahren, ob der Milchzucker irgend welche Veränderungen erfährt. — Eine grössere Reihe von Kolben wurde mit genau abgemessenen

Digitized by Google

Mengen möglichst frischer Kuhmilch gefüllt und alsdann im Koch'schen Dampfkochtopf sterilisirt: es erwies sich zur zuverlässigen Sterilisation nothwendig, die Kolben an vier auf einander folgenden Tagen je eine Stunde dem strömenden Wasserdampf auszusetzen. Nach ausgeführter Sterilisation hatte die Milch eine bräunliche Farbe, gleich stark verdünntem Kaffee, angenommen; etwas Rahmschicht hatte sich an der Oberfläche angesammelt; etwas Caseïn hatte sich abgeschieden. Die Reaction nach der Sterilisation war stets schwach sauer, während dieselbe vorher meist schwach alkalisch gewesen war. Die sterilisirte Milch konnte durch Labferment (Merk), selbst bei tagelangem Aufenthalt im Brütschrank, nicht zur Gerinnung gebracht werden.

Nach der Sterilisation erfolgte die Impfung mit unserem Bacterium; alsdann wurden die Kolben dem Brütschrank überlassen. Die quantitative Untersuchung des Milchzuckers wurde nach Allihn[1]) ausgeführt. Der gesammte Inhalt eines Milchkolbens wurde zunächst in ein Becherglas gespült: um ein klares Filtrat zu erzielen, war es nothwendig, das in der Flüssigkeit fein suspendirte Fett durch ein geeignetes Mittel niederzuschlagen. Es wurde zu diesem Zwecke reines Caseïn, das in Natriumcarbonat gelöst war, zugesetzt. Darauf wurde durch Essigsäure und folgende CO_2-Einleitung das Caseïn wieder ausgefüllt. Dieser Caseïnniederschlag riss das Fett vollständig mit nieder, und die Flüssigkeit wurde wasserklar. Nach Absetzen des Niederschlages ging jetzt die Filtration sehr schnell vor sich. Die filtrirte Flüssigkeit (incl. Waschwasser) wurde nun bis zu einem bestimmten Volumen mit destillirtem Wasser versetzt und alsdann die Bestimmung des Milchzuckers nach Allihn ausgeführt. Ein abgemessener Theil der Flüssigkeit

1) Die Bestimmungen des Milchzuckers wurden genau nach den von Allihn gegebenen Vorschriften vorgenommen. Die von Pflüger angegebene Modification der Allihn'schen Methode (s. Pflüger's Archiv, 1897, Bd. 66, S. 635 ff. und 1898, Bd. 69, S. 399 ff.) konnte, da meine Zuckerbestimmungen schon vor dieser Zeit ausgeführt wurden, nicht berücksichtigt werden.

Digitized by Google

wurde mit Fehling'scher Lösung gekocht; das abgeschiedene Kupferoxydul wurde auf einem Asbestfilter gesammelt, im Wasserstoffstrom zu metallischem Kupfer reducirt und alsdann gewogen. Dieser Kupferoxydulniederschlag ist ausserordentlich fein, so dass es schwer ist, ihn quantitativ auf das Filter zu bringen; ausserdem erfordert die Feinheit des Niederschlags die Vorsicht, eine höhere Asbestschicht wie gewöhnlich zu gebrauchen. Es hängt die Feinheit des Niederschlags wohl ausschliesslich mit der reichlichen Anwesenheit des Peptons in der Lösung zusammen. Wie Controllversuche ergaben, übt sonst das Pepton auf die quantitative Bestimmung des Milchzuckers keinen merklichen Einfluss aus. Es zeigte sich nun bei den ersten quantitativen Versuchen, dass eine Abnahme des Milchzuckers in den geimpften Milchkolben eintrat. Es konnte dieselbe schon nach einer Woche in geringem Maasse nachgewiesen werden gegenüber nicht inficirter Controllmilch, welche in gleicher Weise sterilisirt war und die gleiche Zeit im Brütschrank gestanden hatte.

Während z. B. in einer Versuchsreihe der nichtgeimpfte Kolben 4,73% Milchzucker enthielt, wurden in dem geimpften Kolben nach Verlauf einer Woche nur 4.3% gefunden. Im Verlauf der folgenden Woche nahm der Milchzucker weiter ab: bei einer gewissen Grenze, die nie unter 2,6% gefunden wurde, hörte die Abnahme auf; der Milchzuckergehalt blieb constant oder erfuhr wenigstens in Monaten nur eine unmerkliche Verminderung. Es schien zunächst, als ob die Abnahme des Milchzuckers in ganz unregelmässiger Weise erfolgte, und dass, was die Schnelligkeit der Abnahme, als auch die Stärke der Verminderung betraf, eine bestimmte Gesetzmässigkeit fehlte. Von zwei Kolben z. B., die beide vier Wochen im Brütschrank gestanden hatten, zeigte der eine einen Zuckergehalt von 2,6%, der andere von 4,1%. Eine weitere Ueberlegung, und die im Anschluss daran vorgenommene neue Versuchsreihe, führten darauf, dass die Grösse der verwendeten Kolben von entscheidendem Einfluss auf das Verhalten des Milchzuckers war: eine Reihe von Kolben von

Digitized by Google

verschiedener Grösse wurden mit der gleichen, genau abgemessenen Menge Milch gefüllt, sterilisirt und geimpft; in den grösseren Kolben nahm der Milchzucker mit steter Regelmässigkeit erheblich schneller ab. Es konnte dies nur daran liegen, dass mit der Grösse des Kolbens auch die Grösse der freien Oberfläche der Milch wechselte: je grösser der Luftzutritt war, um so stärker und schneller erfolgte das Wachsthum des Bacteriums. Das wesentlichste Hindernis für den Luftzutritt bildet die Fettschicht, die sich bei der Sterilisation der Milch oben ansammelt: je grösser die Oberfläche im Verhältnis zur Flüssigkeitsmenge ist, um so dünner ist die Fettschicht und um so leichter der Luftzutritt, um so ausgiebiger alsdann das Wachsthum der Bacterien. Aber nicht nur der Milchzucker nahm in den grösseren Kolben schneller ab, auch die Abnahme resp. Auflösung des gefällten Caseïns ging in denselben erheblich schneller vor sich. Auch die alkalische Reaction, die von der Anwesenheit des Ammoniaks herrührte, war stets in den grösseren Kolben stärker ausgesprochen. Auf Grund dieser Erfahrungen wurden bei den weiteren Versuchen stets gleich grosse Kolben benutzt.

Weiter war jetzt die Frage zu entscheiden, wodurch die Abnahme des Milchzuckers erfolgte. Es war zunächst wohl daran zu denken, dass die Bacterien direct durch ihre Lebensthätigkeit die Zersetzung des Milchzuckers herbeiführten. Jedoch war die Möglichkeit keineswegs von der Hand zu weisen, dass das durch die Bacterien bei dem Abbau des Caseïns reichlich gebildete Ammoniak auf den Milchzucker einwirkte, und diese Möglichkeit lag um so näher, als wir ja constatirten, dass die Abnahme des Milchzuckers mit der Zunahme der alkalischen Reaction Hand in Hand ging. Es war deswegen zuerst erforderlich zu constatiren, ob Ammoniak in geringer Concentration in einer Milchzuckerlösung bei Brütschranktemperatur verändernd auf den Milchzucker einwirkt, eventuell eine Abnahme desselben herbeiführt. Eine Untersuchung über die Zersetzung des Traubenzuckers durch Alkalien bei Bruttemperatur haben Nencki

Digitized by Google

und Sieber[1]) angestellt; sie fanden, dass verdünnte Kali- und Natronlauge, nicht aber Ammoniak, den Traubenzucker verändert. Die Zuckerarten von der Formel $C_{12} H_{22} O_{11}$ sollen gegenüber den Alkalien widerstandsfähiger sein. Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Milchzucker berichten sie nicht im Speciellen. Zur Feststellung dieser Frage wurde eine Milchzuckerlösung in verschiedene Kolben vertheilt, dieselben sterilisirt und mit einer Ammoniaklösung, deren Concentration der der geimpften Milch entsprach, beschickt. Um ein Entweichen des Ammoniaks im Brütschrank vollständig auszuschliessen, wurden die Kolben mit Gummistopfen verschlossen und dann mit Paraffin noch weiter gedichtet. Bei der nach einigen Tagen vorgenommenen Untersuchung ergab die Allihn'sche Bestimmung in allen Fällen eine geringe Abnahme des Milchzuckers in den mit Ammoniak versetzten Kolben gegenüber den Kolben, welche nur Milchzuckerlösung enthielten. Die Flüssigkeit hatte in den ersteren Kolben eine leicht gelbliche Färbung angenommen.

Damit war festgestellt, dass eine Einwirkung des NH_3 bei Brütschranktemperatur auf den Milchzucker stattfindet, und es war jetzt weiter zu untersuchen, ob in der geimpften Milch die Milchzuckerabnahme nur auf diesem Wege erfolgt, oder ob die Bacterien selbst daran theilnehmen.

Um die Ammoniakbildung zu verhindern oder wenigstens hintanzuhalten und auf diese Weise die Einwirkung derselben auf den Milchzucker auszuschliessen, wurde versucht, die Milch von den Eiweissstoffen, aus denen der NH_3 vorzugsweise entsteht, möglichst zu befreien. Die Milch wurde mit Lab behandelt, dann filtrirt; das Filtrat wurde zur Entfernung des Albumins gekocht. Das nunmehrige Filtrat war jetzt fast eiweissfrei. Auf Zusatz von Essigsäure und Ferrocyan-Kalium erfolgte

1) Nencki und Sieber, Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers und der Harnsäure durch Alkalien bei Brüttemperatur. Journal f. prakt. Chemie, 1881, N. F., Bd. 24, S. 498 ff.

Digitized by Google

erst nach längerem Stehen eine minimale Trübung. Die Flüssigkeit wurde jetzt in verschiedene Kolben vertheilt; die Kolben wurden sterilisirt, geimpft und in den Brütschrank gestellt. Es trat gutes Wachsthum der Bacterien ein. Bei der nach einem Monat vorgenommenen Untersuchung zeigte es sich, dass die Flüssigkeit sehr stark alkalisch reagirte und Ammoniak enthielt; die quantitative Untersuchung des Milchzuckers ergab eine Abnahme desselben gegenüber den Controllkolben. Das Ammoniak stammte hier wohl aus den Extractivstoffen (Kreatin, Kreatinin u. s. w.). Dieser Versuch ist mithin zur Entscheidung der von uns gestellten Frage nicht verwerthbar. Es gelang nicht, in Milchzuckerlösungen ohne Zusatz stickstoffhaltiger Substanzen, wie Asparagin, ein Wachsthum der Bacterien zu erzielen; und es blieb mithin, um die Frage zu entscheiden, ob die directe Einwirkung des Bacteriums eine Abnahme des Milchzuckers bewirkt, nur der Weg übrig, das gebildete Alkali in den geimpften Milchkolben häufig zu neutralisiren, um auf diese Weise den Einfluss des Ammoniaks auf den Milchzucker nach Möglichkeit auszuschliessen. Die Versuchsanordnung war dabei folgende: Eine grössere Reihe von gleich grossen Kolben wurde mit einer genau abgemessenen Menge von Milch gefüllt; in die Kolben wurde ausserdem, um stets die Reaction von aussen erkennen zu können, nach den Angaben von Marpmann[1]) Lackmustinctur hinzugesetzt. Durch den die Kolben verschliessenden Wattebausch führte ein Glasrohr in den Kolbenhals; dasselbe war mittelst eines Gummischlauchs mit einem zweiten kugelförmig erweiterten, oben mit Watte verschlossenen Glasrohr verbunden. Das verbindende Gummistück war mit einem Quetschhahn versehen. Der kugelförmige Behälter war durch einen starken Eisendraht, der am Hals des Kolbens befestigt war, in seiner Lage fixirt; er enthielt verdünnte Schwefelsäure. Jetzt wurden die so hergerichteten Kolben sterilisirt, alsdann geimpft und für verschiedene

1) G. Marpmann, Ueber die Erreger der Milchsäuregährung. Ergänzungshefte zum Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege, Bd. II, Heft 12, S. 117; ferner Löffler, s. o.

Digitized by Google

Zeit in den Brütschrank gestellt. Jeden Tag wurde ein- bis zweimal das gebildete Alkali neutralisirt, indem durch leichte Oeffnung des Quetschhahns einige Tropfen der verdünnten Schwefelsäure bis zur neutralen oder leichtsauren Reaction hinzugefügt wurden. Das erhaltene Resultat war folgendes: In den häufig neutralisirten Kolben ergab die quantitative Milchzuckerbestimmung nach vier Wochen eine Abnahme des Milchzuckers und zwar um 30%, wie die zum Vergleich ausgeführte Untersuchung des nicht geimpften, doch sonst in gleicher Weise behandelten Milchkolbens zeigte. Weiter war bemerkenswerth, dass in den geimpften, aber nicht neutralisirten Milchkolben die Abnahme des Milchzuckers eine geringere war, wohl deswegen, weil das Wachsthum der Bacterien in diesen Kolben wegen des starken Ammoniakgehaltes weniger gut gewesen war. Jedenfalls ist durch diesen Versuch die directe Einwirkung der Bacterien auf den Milchzucker wohl einwandfrei bewiesen; das Ammoniak wirkt auch, wie wir oben gesehen haben, verändernd auf den Milchzucker und ruft eine Abnahme hervor; dieselbe ist jedoch nur geringfügig; sonst hätte in den geimpften, aber nicht neutralisirten Kolben bei der reichlichen Ammoniakbildung die Abnahme des Milchzuckers eine grössere sein müssen.

Es entstand weiter die Frage: Geht der Zersetzung des Milchzuckers eine Inversion voraus, d. h. wird derselbe vorher in Traubenzucker und Galaktose gespalten? Für den Rohrzucker konnte ich nachweisen, dass die Bacterien ihn zuvörderst invertiren. Dieser Nachweis ist beim Rohrzucker einfach zu führen, da der Rohrzucker selbst alkalische Kupferlösung nicht reducirt, wohl aber, wenn er invertirt ist, d. h. in die Bestandtheile Traubenzucker und Lävulose zerfällt, welche beide die Kupferlösung reduciren. Auch bildet der Rohrzucker selbst kein Osazon, wohl aber geben seine Spaltungsproducte diese Reaction. Eine Rohrzucker-Peptonlösung gab, nachdem die Bacterien einige Tage in derselben gut gewachsen waren, deutliche Reduction, während die gleich

Digitized by Google

behandelte, nicht geimpfte Controllösung keine Reduction zeigte. Weiter konnte ich feststellen, dass das Rohrzucker invertirende Ferment von den Bacterien nach aussen ausgeschieden wird. Setzte ich zu einer 1proc. Rohrzuckerlösung einige Cubikcentimeter einer Bouillon, in welcher die Bacterien gut gewachsen waren, und fügte, um eine Bacterienwirkung auszuschliessen, Toluol oder Thymol hinzu, so bot die Rohrzuckerlösung schon am nächsten Tage deutliche Reduction einer Kupferlösung, während die gleich behandelte, jedoch zur Vernichtung des Ferments einmal aufgekochte Controllösung die Kupferlösung nicht reducirte. Ausserdem liess sich in der ersteren Lösung die Bildung von Osazonen (Glykosazon) nachweisen, während in der Controllösung diese Reaction nicht eintrat.

Da der Milchzucker selbst alkalische Kupferlösung reducirt, ist bei ihm der Nachweis der seiner Zersetzung vorausgehenden etwaigen Spaltung durch die Reductionsprobe ausgeschlossen. Jedoch war es möglich, auf zwei Wegen zu einer Entscheidung darüber zu kommen, ob eine Laktase, wie das den Milchzucker in seine Bestandtheile spaltende Ferment genannt wird, gebildet worden ist: Einmal durch Darstellung der Osazone und Trennung der entstehenden Osazone auf Grund der Erfahrung, dass das Milchzuckerosazon in heissem Wasser löslich ist, während das unlösliche Traubenzuckerosazon zurückbleibt.[1]) Zweitens konnte man den etwa gebildeten Traubenzucker durch Hefe vergähren und durch den entstehenden Gährungsprocess die Inversion des Milchzuckers feststellen, da ja letzterer gegen das Enzym der gewöhnlichen Hefe beständig ist, und nur der Traubenzucker Vergährung erleidet. Bei meinen Versuchen wurde eine 1proc. Milchzuckerlösung mit einigen Cubikcentimetern einer Bouillon, in der die Bacterien reichlich gewachsen waren, versetzt und nach Hinzufügung von Toluol mehrere Tage einer Temperatur von ca. 25° ausgesetzt. Im Gegensatz zu dem Rohrzucker liess sich in der Milchzuckerlösung kein Glykosazon

1) Siehe Emil Fischer, Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. Berichte d. chem. Ges., 1894, Bd. 27, 3, S. 2985 ff. u. S. 3479 ff.

Digitized by Google

nachweisen: das gebildete Osazon löste sich leicht in heissem Wasser, war also Laktosazon. Auch die oben erwähnte Gährungsprobe fiel negativ aus. Es war damit festgestellt, dass eine Laktase von den Bacterien nicht nach aussen abgeschieden wird, wie ich das für das den Rohrzucker invertirende Ferment nachweisen konnte. Ob in den Bacterienleibern selbst vor dem Verbrauch des Milchzuckers eine Spaltung desselben durch ein in den Zellen zurückgehaltenes Ferment eintritt, muss vorläufig dahingestellt bleiben. Um diese Frage zu lösen, müsste man die Bacterienleiber durch Druck zerstören und die Einwirkung der so erhaltenen Masse auf eine Milchzuckerlösung feststellen. Anhangsweise sei hier bemerkt, dass ein diastatisches Ferment von den Bacterien nicht gebildet wird.

Um die Producte, die aus dem zerstörten Milchzucker in der geimpften Milch entstehen, kennen zu lernen, wurde eine Untersuchung der flüchtigen Säuren ausgeführt. — Gegenüber der nicht geimpften Milch, in welcher der Gehalt an flüchtigen Säuren nur gering ist, waren dieselben stets vermehrt. Während z. B. 100 ccm sterilisirter, aber nicht geimpfter Milch eine Säuremenge enthielten, die 0,0272 g Buttersäure entsprach, waren in 100 ccm einer geimpften Milch, auch auf Buttersäure bezogen, 0,1852 g enthalten. Die nicht geimpfte Milch enthielt dabei 4,35% Milchzucker, die geimpfte, welche fast vier Wochen im Brutschrank gestanden hatte, nur noch 2,64% Milchzucker. Ein Parallelismus zwischen der Abnahme des Milchzuckers und der Zunahme der flüchtigen Säuren war nicht zu verkennen. Zum qualitativen Nachweis der flüchtigen Säuren diente das Verfahren, welches Duclaux[1]) im Jahre 1893 angegeben hat. Dasselbe ermöglicht die qualitative und quantitative Ermittelung der in einer Flüssigkeit enthaltenen flüchtigen Säuren. Ich kann hier nicht näher auf die Methode eingehen und muss auf die Originalarbeit verweisen. Der Vorzug der Methode

1) M. Duclaux, Sur le dosage des alcools et des acides volatils. Annales de l'Institut Pasteur, IX, 1895.

Digitized by Google

besteht hauptsächlich darin, dass sie es ermöglicht, auch geringe Mengen von flüchtigen Säuren qualitativ und quantitativ nachzuweisen. Ein Nachtheil ist der, dass sie nach den vorliegenden Tabellen nur zwei flüchtige Säuren neben einander nachzuweisen gestattet; allerdings hebt Duclaux hervor, dass erfahrungsgemäss in Gährungsflüssigkeiten selten mehr als zwei Säuren enthalten sind. — In jedem Falle jedoch, auch wenn mehr Säuren enthalten sein sollten, bietet ein Vergleich der bei dieser Methode gewonnenen Curven unter einander schätzenswerthe Anhaltspunkte.

In der Milch, welche geimpft war, entstand eine Mischung einer höheren mit einer niedrigeren Säure, von Valeriansäure mit Essigsäure. Letztere Säure konnte auch bei Zusatz von Schwefelsäure und Alkohol an der Bildung von Essigsäureäthylester erkannt werden.

Die ursprüngliche Annahme, dass diese flüchtigen Säuren allein von der Zersetzung des Milchzuckers herrührten, wurde hinfällig, als wir in einer zuckerfreien Caseïnlösung, in welcher nach der Impfung die Bacterien gut gewachsen waren, gleichfalls ein ähnliches Gemisch fanden, in welchem allerdings die höhere Säure, die Valeriansäure, in reichlicherer Menge vorhanden war. Geimpfte Peptonlösungen zeigten ähnliche Curven der flüchtigen Säure wie die Caseïnlösungen. Zum Vergleich wurden Peptonlösungen mit und ohne Zusatz von Milchzucker nach hinreichender Sterilisation geimpft und später, nach verschieden langem Aufenthalt im Brütschrank, nach dem Duclaux'schen Verfahren auf flüchtige Säuren untersucht. Die erhaltenen Curven ergaben hier unzweideutig, dass in den milchzuckerhaltigen Lösungen die Menge der niederen Säure stets überwog. Auch hier liess sich immer qualitativ die Anwesenheit der Essigsäure nachweisen; die höhere flüchtige Säure war die Valeriansäure. Es geht aus diesen Versuchen mithin hervor, dass die Bacterien sowohl aus Caseïn, wie aus Milchzucker flüchtige Säuren bilden, wobei die Valeriansäure wohl ausschliesslich aus dem Eiweiss entsteht.

Digitized by Google

Da die Menge der erhaltenen flüchtigen Säuren nicht gross genug ist, um die Abnahme des Milchzuckers in der geimpften Milch allein zu erklären, so wurde auf fixe Säuren (Milchsäure, Bernsteinsäure) nach den bekannten Methoden untersucht. Die Uffelmann'sche Reaction war stets positiv; nach Behandlung mit Zinkcarbonat wurden jedoch keine Zinksalzcrystalle erhalten, so dass man das Vorhandensein von Milchsäure, wenigstens in erheblicherer Menge, mit Sicherheit ausschliessen konnte. Es sei dabei bemerkt, dass auch bei gleicher Behandlung von geimpften, zuckerfreien Pepton- oder Caseïnlösungen gleichfalls die Uffelmann'sche Reaction positiv ausfiel. Nach dem Verdunsten des Aethers blieben in dem Aetherauszug der Milch grössere Crystalldrusen in geringer Menge zurück; dieselben fehlten in dem Aetherauszug reiner Caseïn- resp. Peptonlösungen, so dass dieselben wohl mit Zersetzungsproducten des Milchzuckers in Verbindung zu bringen sind. Vielleicht handelt es sich um Bernsteinsäure; wegen der geringen Menge liess sich ein sicherer Nachweis nicht führen. Auch die Prüfung auf Alkohol in dem Destillat der neutralisirten geimpften Milch gab kein einwandfreies Resultat: wohl war die Jodoform-Reaction positiv, und es trat Grünfärbung bei Behandlung mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat ein; aber beide Reactionen waren auch positiv bei geimpften zuckerfreien Pepton- und Caseïnlösungen, so dass, wenn die genannten Proben auf die Anwesenheit von Alkohol deuten, derselbe auch aus zuckerfreien Eiweisslösungen entstehen müsste. Die Reaction auf Alkohol mit Benzoylchlorid fiel stets negativ aus.

Unter den Zersetzungsproducten des von den Bacterien verbrauchten Milchzuckers waren mithin nur die flüchtigen Säuren mit Sicherheit nachweisbar.

Schneller als der Milchzucker werden seine Componenten, Galaktose und Dextrose, von den Bacterien angegriffen, wie eine mit Hilfe der Allihn'schen Methode ausgeführte quantitative Untersuchung zeigte. Gleiche Gewichtstheile der drei Zucker wurden mit gleichen Mengen Pepton und Nährsalzen versetzt, sterilisirt und geimpft. Nach 14tägigem

Digitized by Google

Aufenthalt im Brütschrank zeigte die quantitative Bestimmung, dass vom Traubenzucker $^3/_4$, von Galaktose $^1/_2$ und vom Milchzucker nur $^1/_6$ der ursprünglichen Menge zerstört war. Der Traubenzucker erfuhr mithin weitaus die grösste Abnahme; aber auch die Galaktose nahm schneller ab als der Milchzucker. Das Wachsthum der Bacterien in traubenzuckerhaltigen Lösungen war von dem gewöhnlichen Wachsthum verschieden. Während in einer geimpften traubenzuckerfreien Bouillon alsbald sich eine Bacteriendecke auf der Oberfläche der Flüssigkeit bildete, die von Tag zu Tag nach dem vorherigen Umschütteln sich wieder erneuerte, trübte sich in einer traubenzuckerhaltigen Bouillon die ganze Flüssigkeit, und eine Bacteriendecke trat zuerst nicht auf oder war nur ganz schwach. Dieses Binnenwachsthum, wie ich das Wachsthum der Bacterien im Gegensatz zu jenem Decken- oder Oberflächenwachsthum bezeichnen möchte, dauerte so lange, bis der Traubenzucker zum grössten Theil zerstört war. In einer Lösung z. B., welche 3% Caseïn und 3% Traubenzucker enthielt, trat in charakteristischer Weise zunächst Binnenwachsthum ein; nach 14tägigem Aufenthalt im Brütschrank zeigte sich Oberflächenwachsthum. Gleichzeitig machte sich diese Umänderung auch in dem Wechsel der Reaction bemerkbar. Während des Binnenwachsthums war die Reaction schwach sauer; nachher wurde dieselbe stark alkalisch in Folge des reichlichen Auftretens von Ammoniak. Erst jetzt war eine erheblichere Eiweissspaltung eingetreten, während zuerst im Wesentlichen der Traubenzucker von den Bacterien in Angriff genommen und die Eiweissspaltung verzögert worden war. In Lösungen dagegen, welche neben dem 3proc. Caseïn 3 proc. Galaktose resp. Milchzucker enthielten, trat gleich nach der Impfung Oberflächenwachsthum und starke alkalische Reaction ein. Rohrzuckerlösungen boten beim Wachsthum der Bacterien ein ähnliches Bild, wie die Traubenzuckerlösungen; auch bei ihnen trat Binnenwachsthum ein. Es hat das seinen Grund darin, dass, wie oben schon erwähnt wurde, die Bacterien ein den Rohrzucker

Digitized by Google

invertirendes Ferment besitzen, welches, nach aussen abgeschieden, den Rohrzucker in Lävulose und Traubenzucker spaltet. Der Traubenzucker unterliegt alsdann der Einwirkung der Bacterien, und es entsteht das Binnenwachsthum derselben. Das abweichende Verhalten des Milchzuckers, bei welchem das Oberflächenwachsthum vorherrscht, liess schon von vornherein das Fehlen eines invertirenden Ferments — einer Laktase — vermuthen: die Annahme fand ihre Bestätigung in den oben mitgetheilten Versuchen.

Das übereinstimmende Verhalten des Trauben- und Rohrzuckers bei der Zersetzung durch die Bacterien fand auch seinen Ausdruck in der Aehnlichkeit der für die flüchtigen Säuren erhaltenen Duclaux'schen Curven. Bei beiden Zuckerarten überwogen in der ersten Zeit nach der Impfung die niederen flüchtigen Säuren (Essigsäure und Ameisensäure waren qualitativ nachweisbar); erst später, als der Eiweissabbau eingeleitet wurde und durch Auftreten von Ammoniak und Oberflächenwachsthum der Bacterien sich zu erkennen gab, trat in reichlicherer Menge die höhere flüchtige Säure — die Valeriansäure — hinzu. — Vergleichende Untersuchungen, bei welchen Peptonbouillon mit verschiedenen Zuckerarten (Rohr-, Trauben-, Milchzucker, Galaktose), ausserdem mit Glycerin und Milchsäure in Form ihres Kalksalzes versetzt und dann geimpft wurde, ergaben nach ca. 14tägigem Aufenthalt im Brutschrank, dass aus allen Körpern dieselben flüchtigen Säuren gebildet worden waren, nämlich Essigsäure und Valeriansäure, wenn auch die Mengenverhältnisse derselben wechselten. Besonders reichlich war die Bildung der flüchtigen Säuren aus Glycerin und aus milchsaurem Kalk.

Caseïn.

Grosse Schwierigkeiten verursachte es, in der geimpften Milch die Zersetzungsproducte des Caseïns durch die Bacterien zu untersuchen, da bei diesen Untersuchungen die Anwesenheit des nicht veränderten Milchzuckers störte. In der geimpften Milch zeigten sich auch nach monatelangem Stehen im Brut-

Digitized by Google

schrank keine Crystalle der Amidosäuren, Leucin und Tyrosin, wie das bei ähnlichen Bacterien von Löffler[1]) beobachtet worden ist. Um den die Untersuchung störenden Milchzucker vor der Impfung der Milch zu entfernen, wurde versucht, die Milch zu dialysiren. Aber selbst im fliessenden Wasser vergingen bis zur völligen Entfernung des Milchzuckers ca. 14 Tage und in dieser Zeit traten Veränderungen in der Milch ein, welche sie für unsere Zwecke unbrauchbar machten. Es wurde weiter versucht, den Milchzucker mit Milchzuckerhefe zu vergähren; jedoch führte auch dieser Versuch nicht zum Ziel, da die Vergährung nur eine unvollständige war.

Es wurde daher davon Abstand genommen, die Zersetzungsproducte des Caseïns in der Milch selbst zu untersuchen, und wir schritten zur Verwendung einer Caseïnlösung. Chemisch reines Caseïn (Merk) wurde in sehr verdünnter Lösung von Natriumcarbonat unter Zusatz von Nährsalzen in geringer Menge gelöst; die alkalische Reaction wurde durch Essigsäure bis zur schwach alkalischen Reaction abgestumpft. Nach hinreichender Sterilisation im strömenden Wasserdampf wurde die Impfung vorgenommen. Es trat alsbald starkes Wachsthum der Bacterien ein; täglich bildete sich auf der Oberfläche eine Bacteriendecke, die durch Umschütteln in der Flüssigkeit vertheilt wurde. Die Anfangs milchige Flüssigkeit wurde allmählich klarer und durchsichtiger. Eine Ausscheidung von Caseïn durch das Labferment wurde nicht beobachtet, was auf den Mangel an Kalksalzen zurückzuführen ist. Die Untersuchung dieser Caseïnlösung ergab Folgendes: am vierten Tage nach erfolgter Impfung war in der Flüssigkeit mit Sicherheit Albumose nachweisbar. Am siebenten Tage nach der Impfung fielen die Reactionen für Albumose negativ aus. Nach dem Aufhören des Bacterienwachsthums, als sich keine Bacteriendecke auf der Oberfläche mehr bildete, erfolgte die weitere Untersuchung: die Flüssigkeit hatte alsdann 14 Tage bis 3 Wochen im Brutschrank gestanden. Dieselbe gab jetzt schwache Biuretreaction, reagirte

1) Löffler, s. o.

Digitized by Google

stark alkalisch; mit Millon's Reagens zeigte sich Rothfärbung. Auf Zusatz von Essigsäure trat kein Niederschlag ein, ein Zeichen, dass unverändertes Caseïn nicht mehr vorhanden war. Von flüchtigen Säuren wurden, wie oben schon erwähnt, nach dem Duclaux'schen Verfahren Valeriansäure und Essigsäure nachgewiesen. Die Untersuchung auf Milchsäure fiel negativ aus. Zur Prüfung auf die Amidosäuren wurde die filtrirte Flüssigkeit mit basischem Bleiacetat versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltrirt und in das Filtrat zur Entfernung des Bleis Schwefelwasserstoff eingeleitet. Das Filtrat (vom Schwefelwasserstoffniederschlag) wurde nunmehr auf ein geringes Volumen eingeengt, worauf zunächst Tyrosin und nach weiterer Einengung Leucin auscrystallisirte. — In geimpften Caseïnlösungen, welche mehrere Monate im Brutschrank gestanden hatten, waren die beiden Amidosäuren bereits in grösseren Mengen am Boden und an den Wänden des Kolbens auscrystallisirt — nach dem Aufhören des Bacterienwachsthums, waren hier durch weitere Einwirkung des vorhandenen Fermentes diese Körper aus dem Pepton gebildet worden.

War es somit bewiesen, dass die Bacterien das Caseïn abbauen und die Amidosäuren bilden, so war es immerhin möglich, dass in der Milch, in der wir, wie wir annahmen, wegen des störenden Einflusses des Milchzuckers Leucin und Tyrosin nicht nachweisen konnten, das Caseïn nicht so weit verändert wurde, und die Einwirkung der Bacterien mit der Bildung von Pepton seinen Stillstand erreichte. — Dem widersprach der positive Ausfall der Tryptophanreaction (violetter Niederschlag nach Zusatz von Bromwasser) in der geimpften Milch. Nach den bisherigen Erfahrungen, denen auch ich mich anschliessen kann, deutet diese Reaction mit Sicherheit auf einen tiefer gehenden Abbau der Eiweisskörper und speciell auf das gleichzeitige Vorhandensein von Leucin und Tyrosin.

Zur Untersuchung auf die aromatischen Oxysäuren wurde die Caseïnlösung eingeengt und nach der Ansäuerung mit Phosphorsäure mit grösseren Mengen von Aether

Digitized by Google

ausgeschüttelt. Der nach dem Verdunsten des Aethers zurückgebliebene Rückstand wurde in Wasser aufgenommen. Derselbe gab leicht, schon vor dem Kochen, die Millon'sche Reaction in ausgesprochener Weise. — Die Entstehung der aromatischen Oxysäuren aus dem Caseïn unter der Einwirkung der Bacterien war damit festgestellt. Weiter wurde die Caseïnlösung auf das Vorhandensein der aromatischen Endproducte des Eiweissabbaues, Indol, Skatol u. s. w. geprüft. Nach Ansäuerung der Flüssigkeit mit Phosphorsäure wurde dieselbe destillirt, das Destillat mit Natronlauge alkalisch gemacht und dann wieder destillirt. Das letzte Destillat enthielt weder Indol noch Skatol. Hierauf wurde der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert, danach mit Natriumcarbonat alkalisch gemacht und wiederum destillirt. Das jetzige Destillat wurde auf Phenol und Kresol untersucht; die Proben fielen negativ aus. Indol, Skatol, Phenol und Kresol werden von den Bacterien aus dem Caseïn mithin nicht gebildet.

Endlich wurde die geimpfte Caseïnlösung auf das Vorhandensein der Hexonbasen (Lysin, Histidin, Arginin) untersucht. Es wurden zu diesen Versuchen grössere Mengen Caseïns (200 g und darüber) in der oben angegebenen Weise gelöst, alsdann nach der Sterilisation geimpft. Wenn kein Bacterienwachsthum mehr erfolgte, wurde die Untersuchung vorgenommen. In einem Versuch war es gelungen, das Wachsthum der Bacterien bis zu dem Verschwinden des Peptons fortzuführen, indem mehrmals nach dem Aufhören des Bacterienwachsthums die stark ammoniakalische Flüssigkeit mit Essigsäure neutralisirt und mit Wasser verdünnt worden war, worauf von neuem Bacterienwachsthum erfolgte. Es gab schliesslich die Flüssigkeit keine Biuret- (Pepton-) Reaction mehr; für die Untersuchung auf die genannten Basen war das besonders werthvoll, da die für die Fällung der Basen angewendete Phosphorwolframsäure auch das Pepton mit ausfällen lässt, und die Anwesenheit desselben die Untersuchung auf die Basen sehr erschwert. Es wurde auf diesem Wege ein Gemisch von Basen erhalten, deren Trennung bisher noch nicht in genügender Weise ge-

Digitized by Google

lungen ist. Durch Silbernitrat liess sich aus dem Gemisch ein feinflockiger Niederschlag ausfällen, und aus diesem Niederschlage wurde nach Entfernung des Silbers ein in schönen, schmalen Prismen crystallisirender basischer Körper gewonnen. Der Silberniederschlag löste sich in Salpetersäure vollständig auf, ebenso im Ueberschuss von Ammoniak. Ein Kupfersalz liess sich durch Zufügung von Natriumbisulfid und Kupfersulfat nicht darstellen. Es handelte sich demnach nicht um eine Xanthinbase. Die erhaltene Base war in Wasser sehr schwer löslich, gab kein Pikrat; das Chlorhydrat derselben crystallisirte, wie die Base selbst, in schönen Prismen aus. Ich hoffe in einer späteren Mittheilung über diese basischen Körper Näheres berichten zu können und lasse es vorläufig dahingestellt sein, ob dieselben als Abbauproducte des Caseïns, wie die Hexonbasen aufzufassen sind, oder ob dieselben grösstentheils directe Stoffwechselproducte der Bacterien darstellen. — Aus dem Filtrat des Phosphorwolframsäure Niederschlages wurden Leucin und Tyrosin in grossen Mengen gewonnen; Asparaginsäure und Glutaminsäure konnten nicht nachgewiesen werden (nach dem Verfahren von Hlasiwetz und Habermann). Es ist wohl möglich, dass Asparaginsäure von den Bacterien gebildet, alsbald aber weiter zersetzt wird und so sich dem Nachweis entzieht; daraufhin gerichtete Untersuchungen ergaben, dass diese Amidosäure, welche ein gutes stickstoffhaltiges Nährmaterial für viele Bacterien bildet, in dieser Hinsicht auch unseren Bacterien willkommen ist und zu reichlichem Wachsthum derselben führt.

Um die Frage zu entscheiden, ob der Caseïnabbau auf der directen Lebensthätigkeit der Bacterien beruht, oder ob sich ein lösliches Ferment, welches das Caseïn in der beschriebenen Weise verändert, nachweisen liess, wurde sterilisirte Bouillon mit den Bacterien geimpft; die sich bildende Bacteriendecke wurde durch Umschütteln in der Flüssigkeit suspendirt, und dies wurde so oft wiederholt, wie sich eine neue Decke an der Oberfläche gebildet hatte. Sistirte das Wachsthum der Bacterien, dann wurde die Bouillon durch Chamberlan-

Digitized by Google

Thonfilter filtrirt. Mit der in dieser Weise erhaltenen Fermentlösung wurden Versuche angestellt. Dieselbe reagirte durch reichliche Anwesenheit von Ammoniak stark alkalisch; Impfungen auf Agaragar ergaben die vollständige Keimfreiheit. — In anderen Fällen wurde die Bouillon nicht durch Chamberland-Filter, sondern nur durch gewöhnliches Filtrirpapier filtrirt, und alsdann bei dem Versuch, um die Wirkung der Bacterien auszuschalten, Thymol oder Toluol hinzugefügt. Benützt man Toluol, so muss man bei der Milch die Vorsicht gebrauchen, dieselbe oft und andauernd umzuschütteln, um das Toluol möglichst fein zu vertheilen. In den Milchkolben, bei welchen ich diese Vorsicht nicht beobachtete, kam es zur Milchsäuregährung, obwohl Toluol in denselben noch deutlich nachzuweisen war.

In frische Milch gebracht, erzeugte die Fermentlösung in $^1/_2$ Stunde bei Bruttemperatur Gerinnung der Milch (die Controllmilch, welche mit der gleichen Menge einmal aufgekochter Fermentlösung versetzt war, blieb unverändert). Das hierdurch in der Fermentlösung festgestellte Labferment erwies sich in seinen Eigenschaften analog dem eigentlichen Labferment, welches im Magen der Kälber erzeugt wird. Gekochte Milch wurde schwerer zur Gerinnung gebracht; Zusatz von wenig Chlorcalcium in Lösung erleichterte resp. beschleunigte das Zustandekommen des Processes. Milch, die solange sterilisirt war, dass sie durch reichliche Mengen des Labferments (Merk) auch bei längerem Stehen bei Bruttemperatur nicht zur Gerinnung gebracht werden konnte, blieb auch bei längerer Einwirkung der obigen Fermentlösung unverändert; wohl aber erzeugten die Bacterien selbst in solcher Milch noch Gerinnung; es ist deswegen wohl anzunehmen, dass das Ferment in statu nascendi eine kräftigere Wirkung ausübt. — Während die durch das Labferment (Merk) geronnene Milch unverändert blieb, trat in der mit der Fermentlösung behandelten Milch nach der Gerinnung eine weitere Veränderung auf. Es kam in derselben im Laufe der nächsten Stunden zu einer allmählichen Auflösung des ausgeschiedenen Caseïns. Diese Auflösung erfolgte auch ohne vorherige Gerinnung, wenn

Digitized by Google

das Labferment vorher in der Fermentlösung zerstört worden war. — Künstliche Milch, nach Hammersten in der Weise hergestellt, dass Caseïn (Merk) in Kalkwasser gelöst, und die Lösung alsdann mit Phosphorsäure neutralisirt wurde, gab, mit der Fermentlösung versetzt, eine starke Ausscheidung von Caseïn. Dasselbe trat bei Anwendung des gewöhnlichen Labferments ein. Controllösungen, die übrigens stets gleichzeitig zum Vergleich benutzt wurden, blieben unverändert. Auch in diesem Versuch löste sich die Ausscheidung von Caseïn, hervorgerufen durch das Labferment der Fermentlösung, in Folge Einwirkung des verdauenden Ferments allmählich wieder auf; der durch das gewöhnliche Labferment erzeugte Niederschlag blieb hingegen unverändert.

Eine mit der Fermentlösung versetzte Caseïnlösung (in Natriumcarbonat) gab nach kurzer Zeit, schon nach zwei Tagen, starke Biuret- (Pepton-) Reaction und liess nach 8 Tagen auf Zusatz von Essigsäure kein Caseïn mehr ausfallen. In einem der angestellten Versuche hörte der Verdauungsprocess des Caseïns mit der Peptonisirung desselben auf; weitere Verdauungsproducte konnten auch nach sechs Wochen nicht nachgewiesen werden. Die Tryptophanreaction fiel negativ aus. In einem anderen Versuche dagegen, bei welchem eine grössere Menge von kräftiger wirkender Fermentlösung verwendet wurde, ging erstens die Peptonisirung des Caseïns viel schneller vor sich; schon nach zwei Tagen war alles Caseïn in Pepton übergeführt. Zweitens kam es in diesem Falle zu einer weitergehenden Spaltung des gebildeten Peptons. Schon am dritten Tage liess sich dieselbe an dem Auftreten einer schwachen Tryptophan- (Brom-) Reaction erkennen. Diese Reaction wurde allmählich stärker. In diesem Versuch gelang auch die Isolirung von Leucin und Tyrosin, sowie die Feststellung der aromatischen Oxysäuren mit Hilfe der Millon'schen Reaction. Es ist mithin die Bildung derselben nicht an die Anwesenheit der Bacterien geknüpft, sondern kommt durch die Fermentwirkung zu Stande.

Digitized by Google

Dass durch die Einwirkung der Fermentlösung Ammoniak gebildet wird, wurde durch folgende Versuche festgestellt: Milch wurde sterilisirt, geimpft, und nachdem die typische, durch die Bacterien bedingte Veränderung eingetreten und schon deutlich alkalische Reaction constatirt war, wurde das Wachsthum der Bacterien unterbrochen. Die Milch wurde schwach sauer gemacht und alsdann nach Zusatz von Thymol der Einwirkung der Fermente allein überlassen. Bald darauf — schon nach zwei Tagen — war die Reaction schwach alkalisch, und es liess sich Ammoniak nachweisen. Ein ähnlicher Versuch wurde mit einer Caseïnlösung gemacht, welche mit Fermentlösung versetzt wurde. Auch diese Lösung, die Anfangs neutral gemacht war, nahm bald schwach alkalische Reaction an. — Ammoniakbildung durch das Ferment findet nur in sehr geringer Menge statt; viel erheblicher und schneller kommt dieselbe durch die Bacterien selbst zu Stande.

Durch Zusatz von Alkohol konnte man die beiden Fermente — das Labferment und das verdauende Ferment — aus der Ferment-Bouillon ausfällen: zunächst trat eine schwache Trübung ein; nach einiger Zeit zeigte sich ein feiner Niederschlag, der sich allmählich absetzte. Der gesammelte Niederschlag wurde mit Alkohol gewaschen, im Exsiccator getrocknet und bildete alsdann ein grauweisses Pulver. Man vermochte mit geringen Mengen dieses Pulvers, das übrigens seine Wirksamkeit, im Exsiccator aufbewahrt, nicht verliert, in kurzer Zeit Milch zur Gerinnung zu bringen; später trat eine Auflösung der geronnenen Massen ein. Liess man die Fermentbouillon längere Zeit (sechs Wochen) im Brütschrank stehen, so ging das Labferment zu Grunde, während das verdauende Ferment seine Wirksamkeit bewahrte. Durch einmaliges kurzes Aufkochen verloren beide Fermente ihre Wirksamkeit. —

Die quantitative Untersuchung des **Fettgehaltes** der geimpften Milchkolben zeigte im Vergleich mit den nicht geimpften, sonst in gleicher Weise behandelten Kolben keinen merklichen Unterschied; nach Verlauf von sechs Wochen nach der Impfung hatte der Fettgehalt keine Veränderung erfahren.

Digitized by Google

Die wesentlichsten Ergebnisse dieser Untersuchung sind, kurz zusammengefasst, folgende:

1. In der Milch, welche mit unserem Bacterium geimpft war, trat eine Abnahme des Milchzuckers ein. Die Abnahme erfolgte langsam und ging nie unter 2,6% herunter.
2. Die Abnahme des Milchzuckers ist hauptsächlich auf die directe Lebensthätigkeit der Bacterien zurückzuführen. — In geringem Grade wirkt auch das von den Bacterien reichlich gebildete Ammoniak auf den Milchzucker ein.
3. Ein den Milchzucker invertirendes lösliches Ferment wird von den Bacterien nicht gebildet; es geht der Zersetzung des Milchzuckers mithin eine Inversion ausserhalb der Zellorganismen nicht voraus.
4. Dagegen produciren die Bacterien ein den Rohrzucker invertirendes, lösliches Ferment.
5. Unter den Zersetzungsproducten des Milchzuckers liessen sich mit Sicherheit nur flüchtige Säuren nachweisen.
6. Traubenzucker wird von den Bacterien viel stärker als Milchzucker angegriffen. In traubenzuckerhaltigen Lösungen erfolgt unter Vorherrschen der Säurebildung ein charakteristisches »Binnenwachsthum«, während in milchzuckerhaltigen Lösungen nur Oberflächenwachsthum bei starker Ammoniakentwicklung vorhanden ist.
7. Das Fett wird von den Bacterien nicht angegriffen.
8. Ein diastatisches Ferment wird nicht gebildet.
9. Aus dem Caseïn wird von den Bacterien Albumose, später Pepton gebildet. Weiter wurden nachgewiesen: Ammoniak, flüchtige Säuren (Valeriansäure und Essigsäure), ferner Tryptophan, die Amidosäuren Leucin und Tyrosin, die aromatischen Oxysäuren und ein Gemisch von Basen, unter denen sich durch Silberfällung eine schwerlösliche, gut crystallisirte Base gewinnen liess. — Indol, Skatol, Phenol und Kresol wurden nicht gebildet.

Digitized by Google

10. Durch Fermentwirkung allein entstehen aus dem Caseïn: Pepton, Leucin und Tyrosin, die aromatischen Oxysäuren und in geringer Menge Ammoniak.
11. Bis auf die Bildung der aromatischen Oxysäuren, welche durch die Trypsinverdauung bisher nicht nachgewiesen wurden, zeigt das von den Bacterien producirte verdauende Ferment vollständige Uebereinstimmung mit dem Trypsin.
12. Das von den Bacterien gebildete Labferment verhält sich in seinen Eigenschaften analog dem gewöhnlichen Labferment.

Für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für den jeder Zeit gewährten Rath sage ich Herrn Professor Thierfelder herzlichen Dank.

Digitized by Google

Ueber Buttersäuregährung.

I. Abhandlung.

Von

A. Schattenfroh und **R. Grassberger,**

Assistenten am Institute.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.)

(Mit Tafel I.)

Seitdem Pasteur durch seine classischen Untersuchungen über den Vibrion butyrique gezeigt hatte, dass es Bacterien gibt, welche nur unter Sauerstoffabschluss sich zu entwickeln vermögen, war in Fachkreisen das Interesse für die Anaërobiose im Allgemeinen nicht mehr erlahmt, speciell der Einfluss des Sauerstoffzutritts und Sauerstoffmangels auf die Gährthätigkeit der Mikroorganismen — wir denken hier gerade an die Alkoholgährung der Hefe — war Gegenstand eifrigsten Studiums. Als der Typus einer unter Sauerstoffabschluss vor sich gehenden Gährung erschien auch weiter die Buttersäuregährung, und die Reihe der Autoren, welche Buttersäuregährungserreger beschrieben haben, ist eine grosse. Hier seien nur die Namen: Prazmowski, Fitz, Van Tieghem, Gruber, Beijerink, Grimbert, Perdrix, Klecki, Kedrowski genannt. Trotz dieser zahlreichen Untersuchungen kann aber nicht behauptet werden, dass die Bearbeitung eine erschöpfende ist. Theils weil die früheren Untersuchungen sich nicht immer auf sichere Reinculturen bezogen, theils weil die Autoren es mit wenigen Ausnahmen unterlassen haben, über die Verbreitung des von ihnen beschriebenen Bacteriums Aufschlüsse zu erhalten und zu geben,

Digitized by Google

hauptsächlich wohl aber aus dem Grunde, weil Niemand sich bemüht hat, unter Zugrundelegung einer gemeinsamen Basis einen Vergleich der beschriebenen Arten zu ermöglichen, — ist es ganz ausgeschlossen, aus der Literatur allein einen richtigen Ueberblick über diese Gährung sich zu verschaffen.

Deshalb haben wir — von vornherein darauf verzichtend — eine Neubearbeitung der Buttersäuregährung beschlossen und haben die bereits vorliegenden Untersuchungen nur zum Vergleiche der darin beschriebenen Arten mit den von uns isolirten herangezogen. Nichtsdestoweniger erschien es uns natürlich nützlich, soweit als möglich die Originalstämme der Autoren uns zu verschaffen, und ist uns dies zum Theil gelungen. Wir wollen auch an dieser Stelle nochmals unsere Fachgenossen ersuchen, soferne sie im Besitze von solchen sein sollten, uns dieselben zu senden.

Nachdem wir die bisherigen Untersuchungen, wie erwähnt, aus verschiedenen Gründen für nicht ausreichend und vor allem auch für ungeeignet zur Orientirung halten, ist es wohl zu rechtfertigen, wenn wir nicht am Eingange unserer Arbeit per longum et latum die Literatur mittheilen. Wir halten es für zweckmässiger, erst an der passenden Stelle die jeweilige Beschreibung kurz einzureihen und hoffen, dass an Uebersichtlichkeit hiebei nur gewonnen wird.

Der Plan, den wir verfolgten, ging davon aus, durch Anwendung neuer Methoden und unter Benützung der von den Autoren geübten, alles mögliche Material auf etwaiges Vorhandensein von Buttersäuregährungserregern zu untersuchen, wobei wir entweder aus dem Material direct, ohne weitere Vornahmen mittels Plattencultur solche zu isoliren versuchten, oder wobei wir erst eine Anreicherung der vorerst in vielleicht nur wenigen Exemplaren vorhandenen Buttersäurebacterien in Milch, Zucker-, oder Stärkebouillon, Würze etc. erstrebten.

Wir wollen gleich hier mittheilen, dass unsere Untersuchungen zu in mehrfacher Hinsicht überraschenden Ergeb-

1) Siehe Baier's Referat. Centralbl. f. Bacteriologie, II. Abth. Bd. 2.

Digitized by Google

nissen geführt haben. So konnten wir, woran wir von vornherein nicht gedacht hatten, eine neue, bis jetzt nicht beschriebene Art, die in ungeheuerer Verbreitung vorkommt, auffinden. Ferner waren wir in der Lage, die Beschreibung der Stämme der Autoren nach einer für die Classification derselben höchst wichtigen Seite hin zu ergänzen; schliesslich sind wir durch dieselben auch dazu geführt worden, die Existenz eines von seinem Autor als weitverbreiteter Buttersäuregährungserreger beschriebenen Bacteriums in Abrede stellen zu müssen (Bacillus butyricus Botkin.).

Die Buttersäurebildung ist nicht unter allen Umständen an streng anaërobe Bedingungen geknüpft. Es gibt auch Bacterien, welche bei Sauerstoffzutritt Buttersäure zu bilden im Stande sind. Es ist aber die Frage, ob alles, was bisher als »aërobe Buttersäuregährung« beschrieben wurde, eigentlich hieher gehört. So müssen wir Klecki durchaus beipflichten, wenn er die unter Bildung von Buttersäure erfolgende Zersetzung der Eiweisskörper ausgeschieden wissen will. Selbstverständlich darf auch die Spaltung des Milchfetts — wobei unter den flüchtigen Säuren auch Buttersäure frei wird — nicht hieher gerechnet werden. Es ist durchaus nicht überflüssig, gerade auf letzteren Punkt die Aufmerksamkeit zu lenken, da man bisher wiederholt aus dem Auftreten von Buttersäure in Milchculturen — exact nachgewiesen oder nach dem Geruch (!) vermuthet — ohne weiteres auf eine Vergährung des Milchzuckers geschlossen hat. Wir haben aus Milch einen exquisiten Fettspalter isolirt, der uns anfangs als aërober Buttersäurebacillus imponirte, und der den Milchzucker nur wenig angreift. Es gibt aber zweifellos echte aërobe Buttersäurebacillen; sicher gehört der von Hueppe und später von Gruber beschriebene Bacillus hieher. Ebenso wird von Vertretern der Heubacillen- und Kartoffelbacillengruppe Buttersäure gebildet. Auch wir hatten echte aërobe Buttersäurebacillen bereits in Händen.[1])

1) An und für sich ist die richtige Definition des Begriffes »Buttersäuregährung« nicht leicht zu geben. Nach unserer Ansicht wäre als solche nur eine unter wahrnehmbarer Gasbildung erfolgende Buttersäure-

Digitized by Google

Zunächst haben wir — von einigen zufälligen Befunden abgesehen — uns ausschliesslich mit der streng anaëroben Buttersäuregährung beschäftigt. Dieselbe gliedert sich bekanntlich in zwei Gruppen, in die Buttersäuregährung der Milchsäure resp. milchsauren Salze und in die Buttersäuregährung der Kohlenhydrate einschliesslich einiger Alkohole (Mannit, Glycerin).

Wir haben bisher nur letztere studirt, und sind auch da unsere Untersuchungen noch nicht völlig beendet. Wir wollen deshalb in dieser Abhandlung nur die ausführliche Beschreibung der von uns neu aufgefundenen Art liefern, welche in die zweite Gruppe eingereiht werden muss.

Anfänglich scheiterten viele unserer Versuche daran, dass wir die Methodik der anaëroben Cultur nicht in genügender Weise beherrschten. Ob dies auf einer Unzulänglichkeit der bisher geübten Technik beruhte — für die Plattencultur möchten wir dies fast behaupten — oder uns selbst zugeschrieben werden muss, wollen wir nicht entscheiden.

Im Nachstehenden schicken wir die Methoden voraus, deren wir uns schliesslich stets bedienten, und die, richtig gehandhabt, durchaus sichere und verlässliche sind.

Technik der anaëroben Cultur.

Dreierlei Principien sind es bekanntlich, welche den verschiedenen bisher geübten anaëroben Culturmethoden zu Grunde liegen. Der den Bacterien abträgliche Luftsauerstoff wird von den Culturen dadurch ferngehalten, dass man entweder die Luft durch Einleiten eines indifferenten Gases (Stickstoff, Kohlensäure, Wasserstoff) ersetzt, oder dass man durch Evacuiren

bildung aus Kohlehydraten und Milchsäure (vielleicht auch aus Glycerin oder Mannit), kurz aus stickstofffreiem Materiale und zwar solchem, das die Buttersäure nicht präformirt enthält (Milchfett), aufzufassen. Hiebei ist noch zu beachten, dass der betreffende Gährungserreger, um als Buttersäurebacterium zu gelten, wenigstens unter Umständen oder bei zweckmässig gebotenen Bedingungen, Buttersäure auch in relativ grosser Menge zu bilden im Stande ist. Gerade diese Abhandlung liefert aber den Beweis, dass ein exquisiter Buttersäurebacillus Buttersäure nicht immer als Hauptproduct entstehen lassen muss.

Digitized by Google

eines hermetisch schliessenden Raumes die Luft entfernt, oder dadurch, dass man durch Absorptionsmittel, die den Sauerstoff chemisch binden, eine Stickstoffatmosphäre schafft. Combinationen der drei Methoden sind häufig angewendet worden.

Zwei von diesen Methoden haben sich als nicht für alle Fälle geeignet erwiesen. Die einfache Absorption des Sauerstoffs in einem Luft enthaltenden, geschlossenen Raum durch chemisch wirksame Stoffe erfolgt zu langsam und zu wenig vollständig, ist daher für grosse Luftquantitäten und für den Fall, als strengste Anaërobiose erforderlich ist, nicht stets anwendbar. Die Fortschaffung des Sauerstoffs durch Luftverdünnung reicht, soferne man nicht eine Quecksilberluftpumpe zur Verfügung hat, gleichfalls nicht aus, da es durch Evacuiren mittels einer Wasserstrahlpumpe niemals gelingt, einen Raum völlig luftfrei zu machen. Als technischer Nachtheil kommt für beide Methoden hinzu, dass man hiebei auf feste Verschlüsse (Glas-, Quetschhähne, mit Fett bestrichene glatte Flächen) angewiesen ist und auf den viel sichereren Flüssigkeitsverschluss wegen des Nachsteigens der Sperrschichte in den ganz oder theilweise evacuirten Raum verzichten muss.

Verbindet man das Evacuiren mittels einer Wasserstrahlpumpe mit gleichzeitigem Erwärmen des Nährsubstrats und Wasserdampfentwickelung aus demselben (Auskochen im Vacuum), so gelangt man allerdings ans Ziel, doch ist diese Methode (Gruber) für Agarculturen, wie sich von selbst ergibt, nicht gut anwendbar. Am zweckmässigsten erscheint zweifellos die Combination des zuerst erwähnten Verfahrens, des Ersatzes der Luft durch ein indifferentes Gas mit der dritten Methode, der Absorption des Sauerstoffs durch chemisch wirksame Stoffe. Ohne die Verbindung mit dieser verliert auch sie an Exactheit und Verlässlichkeit. Nach diesem Princip ist das Botkin'sche Verfahren eingerichtet. In eine, nach aussen durch eine Paraffinschichte abgeschlossene Glasglocke, innerhalb welcher die Culturen untergebracht werden, wird Wasserstoff eingeleitet, und überdies wird noch eine Schale mit alkalischer Pyrogallollösung von vornherein in die Glocke gestellt.

Digitized by Google

Wir haben nun für Plattenculturen hauptsächlich — doch auch für alle anderen in Betracht kommenden Culturmethoden — die Botkin'sche Methode wie folgt modificirt.

Vor allem wird in die Glocke chemisch reiner, von Luft völlig befreiter Wasserstoff geleitet. Es ist zu diesem Zwecke nöthig, eine Reihe von Waschvorrichtungen und in besonderer Anordnung an den Kipp'schen Apparat anzuschliessen.

Zunächst passirt das Gas vier Waschfläschchen, die mit Lösungen von salpetersaurem Blei (10%), chromsaurem Kali und Schwefelsäure (Säure 1 : 3; möglichst concentrirt), salpetersaurem Silber (10% in geschwärztem Gefässe) und Chamäleon in Schwefelsäure (Säure 1 : 20; möglichst concentrirt) gefüllt sind. Hiedurch wird der grösste Theil der verunreinigenden Gase (Schwefelwasserstoff, Arsenwasserstoff u. a.), auch mitgerissene organische Substanzen zurückgehalten.

Um den Wasserstoff völlig frei von diesen Gasen zu gewinnen, ist es nöthig, ihn noch weiter durch mit Bimsstein gefüllte, gleichfalls Lösungen von salpetersaurem Blei und salpetersaurem Silber enthaltende U-Röhren zu leiten.

Schliesslich, knapp vor dem Eintritt in die Glocke, sind noch die Spuren Sauerstoff wegzuschaffen, die theils aus der entwickelnden Säure stammen, theils durch undichte Stellen im Apparate von aussen diffundiren. Dies geschieht wieder in Bimsstein-Röhren, die mit alkalischer Pyrogallollösung gefüllt werden. Um letztere möglichst lang brauchbar zu erhalten, ist es aber zweckmässig, nicht von vornherein den Bimsstein mit alkalischer Pyrogallollösung zu tränken, sondern man geht besser so vor, dass man anfänglich in die Röhren, mit dem Bimsstein gut gemengt, nur das Pyrogallol in Substanz einbringt und die Lauge (10%) durch eine an den Enden der Röhren angebrachte, gut schliessende Tropfvorrichtung erst dann einfliessen lässt, wenn der ganze Apparat — dies gilt natürlich nur für die erste Benützung des frisch zusammengestellten Apparats — mit Wasserstoff gefüllt ist, wovon man sich durch Prüfung der Brennbarkeit des abströmenden Gases überzeugt.

Wenn Hähne und Schläuche gut schliessen, reichen die Waschvorrichtungen für lange Zeit aus, und die ziemlich grosse Mühe und Sorgfalt, welche die ganze Aufstellung erheischt, wird dadurch belanglos.

Gelingt es auf diese Weise, chemisch reinen, von Sauerstoff völlig befreiten Wasserstoff in die Culturglocke zu bringen, so dient die nächste Anordnung in vollkommener Weise dazu, einmal die geringen Mengen Sauerstoff, die vielleicht noch in der Glocke zurückbleiben konnten, wegzuschaffen und anderseits zu verhüten, dass von aussen neuer Sauerstoff ins Innere der Glocke dringt. Dies wird durch folgenden

Digitized by Google

Verschluss erreicht. Nachdem auf irgend eine Weise — die Details der betreffenden Vorrichtungen ergeben sich ganz von selbst — die Culturen in der Glocke versorgt und die mit biegsamem Draht montirten, den Wasserstoff zu- und abführenden Schläuche zweckmässig befestigt wurden, wird auf den Boden der Schale in entsprechend hoher Schicht, so dass das Niveau der Flüssigkeit den Rand der Glocke um 2 bis 3 cm überragt, eine wässrige, neutrale oder schwach sauere Pyrogallollösung gegossen, welche unmittelbar vorher frisch ausgekocht und auf ca. 40° abgekühlt worden war. Dann wird — der Apparat ist inzwischen in lebhaften Gang versetzt worden — aussen zwischen Schale und Glocke flüssiges Paraffin 3 bis 4 cm hoch überschichtet. Nach ca. einer halben Stunde, was nach unseren Erfahrungen völlig ausreicht, wird eine concentrirte Natronlauge, gleichfalls frisch ausgekocht, mittels einer Pipette durch die Paraffinschicht in die Pyrogallollösung fliessen gelassen, und gleichzeitig werden die Gasleitungsschläuche aus der Glocke hervorgezogen. Ist richtig gearbeitet worden, darf sich die Pyrogallollösung nur ganz wenig färben; in vielen Fällen nahm sie nur einen schwachen, röthlichgelben Farbenton an.

Der Vorzug dieser Einrichtung, die auch die Praxis glänzend bewährt fand, ist wohl einleuchtend. Im Innern der Glocke ist eine grosse Oberfläche alkalischer, völlig frischer, unverbrauchter Pyrogallollösung leicht im Stande, Reste von unverdrängtem Sauerstoff verhältnismässig rasch zu absorbiren, und aussen verhindert letztere, dass Luft durch das Paraffin ins Innere der Glocke diffundirt, was durch den Paraffinverschluss allein (Botkin) nicht erreicht werden kann, wie man bei unserer Versuchsanordnung ohne Weiteres erkennt, indem die der Paraffinschicht zunächst gelegene Zone in der Pyrogallollösung sich später ziemlich rasch intensiv dunkel färbt.

Der Fortschritt gegenüber der Botkin'schen Vorschrift besteht also darin, dass ins Innere der Glocke überhaupt gar kein Sauerstoff gelangen kann, während bei Botkin der durch die Paraffinschicht unbehindert diffundirte Luftsauerstoff erst nachträglich und allmählich von einer theilweise

Digitized by Google

schon verbrauchten, eine kleinere Oberfläche bietenden Pyrogallollösung gebunden wird. Die Concentration von Natronlauge und Pyrogallol wird am besten entsprechend ihrer höchsten Absorptionskraft gewählt. Die absoluten Maasse ergeben sich aus den Dimensionen der Schale und Glocke.

Ganz besonders ist unter allen Umständen noch darauf zu achten, dass der Wasserstoff in raschem Tempo durch die Gefässe geleitet wird. Die ganze Anordnung des Apparates mit seinen zahlreichen Waschflaschen bietet eine Gewähr dafür, dass trotz lebhaftesten Stromes eine Schädigung der Culturen durch verunreinigende Gase sicher vermieden werden kann. Wir haben uns oft davon überzeugt, dass diese Vorsichtsmaassregel keine überflüssige ist und glauben auch, dass ein grosser Theil der Misserfolge bei Anfertigung anaërober Culturen darauf beruht, dass die Luft aus den todten Ecken und Winkeln nicht genügend ausgetrieben wird.

Wir halten die Cultur in der Botkin'schen Glocke in der modificirten Anordnung für die denkbar strengste anaërobe und haben sie überall dort angewendet, wo es uns wünschenswerth schien, über die Strenge der Anaërobiose völlig sicher zu sein.[1]) Ausser Plattenculturen haben wir noch kleinere oder grössere Erlmeyerkolben, Eprouvetten, Kartoffelschälchen u. a. auf diese Weise gehalten.[1]) Etwaige Watteverschlüsse in solchen Fällen mussten locker gefügt sein.

Für grosse Gährkolben mit einem Inhalt von 1 bis 3 l sind wir gewöhnlich anders verfahren. Den Verschluss solcher grösserer Kolben oder Flaschen bildete ein doppelt durchbohrter, gut passender Kautschukstopfen, in dessen einer Bohrung ein bis nahe an den Boden des Gefässes reichendes, über dem Stopfen rechtwinkelig gebogenes Glasrohr, in dessen zweiter Bohrung ein knapp unter dem Stopfen endendes, zweimal rechtwinklig gebogenes Rohr stak. Ersteres, an seinem Ende mit Watte lose

1) Der einzige Nachtheil des Verfahrens ist, dass es verhältnismässig kostspielig ist. Durch passende Wahl der Gefässe, sparsames Arbeiten und En-gros-Bezug der Chemikalien kann jedoch der Preis zu einem ziemlich mässigen herabgedrückt werden.

Digitized by Google

verschlossen, diente zur Verbindung mit dem Wasserstoffapparate, letzteres (das Gasentbindungsrohr) reichte mit seinem freien Ende bis an den Boden einer Eprouvette, die mittels Eisendraht oder bekleisterten Papierstreifen aussen an dem Gährkolben befestigt war.

Nachdem eine Weile Wasserstoff in raschem Strome durch die ausgekochte und nach dem Erkalten mit der Cultur beschickte Nährlösung geleitet war, wurde bei stark gemässigtem Tempo des Stromes wässrige Pyrogallollösung in die Eprouvette gegeben, dieselbe mit Paraffin überschichtet und kurz darauf mit der Pipette Lauge eingebracht und der Apparat abgestellt; das Gaszuführungsrohr wurde schliesslich bei möglichst niedriger Temperatur (um ein Blähen des Glases zu verhindern) zugeschmolzen.

Anfangs konnten wir ein Wachsthum der Anaëroben in den flüssigen Nährmedien — auch im Grossen — schon einfach dadurch ermöglichen, dass wir letztere durch Auskochen oder Erhitzen im strömenden Dampfe luftfrei machten und mit sterilem Paraffin überschichteten. Wir haben diese Methode häufig geübt. Die Anaërobiose war aber in dem Falle keine strenge, und ihre mehr oder minder grössere Vollständigkeit hing nur davon ab, wie weit die gebildeten Gährungsgase den diffundirenden Luftsauerstoff frühzeitig verdrängten und von den Culturen fernhielten.

Oberflächenwachsthum auf Schrägagar konnten wir auch im Buchnerrohre erzielen, sofern wir möglichst viel ausgekochte wässrige Pyrogallollösung, sowie ausgekochte Lauge, vorsichtig überschichtend, in die Röhre brachten, rasch verschlossen und nun erst durch Drehen beide Flüssigkeiten vermischten.

Für einfache Culturzwecke — behufs Erlangung junger Culturen etc. — genügte bei den festen Nährböden schon das einfache Auskochen, öfter verbunden mit dem Verschlusse im Buchnerrohre; flüssige Nährböden wurden in solchen Fällen stets im Buchnerrohre gehalten.

Für die Culturen in Milch haben wir meistens ein besonderes Verfahren in Anwendung gebracht, das im Allgemeinen einer weniger strengen Anaërobiose entsprach. Die sterilisirte

Digitized by Google

Milch wurde im strömenden Dampfe eine halbe Stunde erhitzt (luftleer gemacht) und dann die Flasche — nach dem Erkalten und nach erfolgter Impfung[1]) — mit einem einfach durchbohrten Kautschuk- oder Korkstopfen verschlossen, in dem ein mit einem Stück dickwandigen Schlauches verbundenes Glasrohr stak. Das andere Ende des Schlauches war durch ein Glasstäbchen gut verschlossen, während in seiner Continuität eine schlitzförmige Oeffnung angebracht wurde, welche dazu bestimmt war, den Gährungsgasen den Austritt zu gestatten (Bunsenventil). Zwar nur selten für Reinculturen, doch fast stets zum Zwecke der Untersuchung von Marktmilch und behufs Anreicherung der gesuchten Bacterien in künstlichen Nährlösungen, kam noch eine Methode in Betracht, die Cultur in Flaschen von dickwandigem Glase mit Patentverschluss (Bier- und Milchflaschen). Nachdem im strömenden Dampfe bei lose aufgelegtem Verschlussstücke der grösste Theil der Luft ausgetrieben war, wurden durch Niederdrücken der Hebelvorrichtung die Gefässe im Dampfe geschlossen.

Noch einmal wollen wir zum Schlusse betonen, dass in allen Fällen, bei Anwendung einer jeden der besprochenen anaëroben Methoden, kurz vor der Impfung die Nährböden frisch ausgekocht wurden.

Der Botkin'sche Bacillus butyricus.

Als einer der am weitesten verbreiteten Buttersäurebacillen galt bisher der von Botkin beschriebene Bacillus butyricus aus Marktmilch.

Aus diesem Grunde trachteten wir zunächst, uns seine Cultur zu verschaffen, und da es unmöglich war trotz mehrfacher Anfragen einen Originalstamm irgendwo aufzutreiben, wurden wir dazu geführt, das von Botkin angegebene Verfahren zu seiner Gewinnung einzuschlagen. Botkin gibt an, dass durch partielle Sterilisirung jeder beliebigen Probe Marktmilch ein

1) Bei der Impfung im Grossen bedienten wir uns mit Vortheil junger, üppig gewachsener Zuckeragarstichculturen, welche mit sterilisirten, federkielartig abgeschliffenen Glasrohren ausgestochen und übertragen wurden.

Digitized by Google

wohlcharakterisirter Buttersäurebacillus darin angereichert werden könne. Er geht dabei so vor, dass er ca. $^1/_2$ l Marktmilch einige Zeit (15 bis 40 Minuten) im strömenden Dampfe erhitzt und dann die Proben unter Luftabschluss bei 37° hält. Nach 24 Stunden — auch schon gelegentlich früher — sei die Milch in stürmische Gährung versetzt, wobei des Caseïn abgeschieden werde und als klumpiges Gerinnsel auf der klaren Molke schwimme. Durch anaërobe Plattencultur sei hieraus ein wohlcharakterisirter Bacillus zu gewinnen, der deutlich, wenn auch schwach beweglich sei, die Gelatine verflüssige, in Milch das anfänglich ausgeschiedene Caseïn allmählich wieder in Lösung bringe, und — vorwiegend in stärkehaltigen Nährböden — endogene Sporen bilde, wobei die Stäbchen tonnenförmig anschwellen und in ihrer Leibessubstanz Granulose ablagerten. Botkin beschreibt dann weiter das Aussehen der Colonien auf Agar und theilt die Ergebnisse der Untersuchung der in Milch, Milchzuckerbouillon und künstlicher, mit Stärke versetzter Nährlösung gebildeten Gährproducte mit.

Stets entstanden hiebei Butylalkohol, Buttersäure und Milchsäure, und von Gasen Kohlensäure und Wasserstoff; Sumpfgas fehlte. Der gefundene Bacillus war streng anaërob und war nicht im Stande, Milchsäure und Cellulose zu vergähren.

Wir sind nun beim Nachprüfen der Botkin'schen Versuche zu ganz anderen Resultaten gekommen. Wir konnten niemals — und verfügen über etwa achtzig protokollirte und zahlreiche orientirende Versuche — einen Buttersäurebacillus auffinden, der mit dem von Botkin beschriebenen identificirt werden könnte.

Unsere Versuche mit partiell sterilisirter Milch waren auch nicht so eindeutig wie diejenigen, die Botkin mitgetheilt hat. Wir haben verschiedene Veränderungen derselben beobachtet, wenn auch nicht alle gleich häufig angetroffen wurden.

Das Fahnden nach der Cultur des Bacillus butyricus war auch die Ursache, dass wir eine grosse Reihe von Erfahrungen über die Anreicherung der in den verschiedensten Materialien vorfindlichen Bacterien in sterilisirter Milch sammelten. Besonders

Digitized by Google

interessant war aber für uns die Untersuchung einer Reihe von Proben frischer Marktmilch, da wir hiebei zuerst einen bisher noch nicht beschriebenen Gährungserreger fast constant antrafen, der in ausgedehnter Verbreitung in der Natur vorkommt.

Wir wenden uns zu der Beschreibung unserer Versuche mit partiell sterilisirter Milch und wollen erst zum Schlusse an der Botkin'schen Arbeit Kritik üben.

Der Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens.

Wenn wir so vorgingen wie Botkin, also frisch bezogene Marktmilch durch einige Zeit im strömenden Dampfe erhitzten, so trat in fast allen Fällen in den bei 37° C. bewahrten, vor Luftzutritt geschützten Gährflaschen Gährung ein, deren Intensität allerdings innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankte. In manchen Fällen war die Gasentwickelung so ausserordentlich lebhaft, dass die verschlossenen Flaschen in kürzester Zeit (16 bis 20 Stunden) zertrümmert wurden, manchmal war die Vergährung eine ruhigere, so dass der in den Flaschen entstandene Ueberdruck kein sehr bedeutender war. Einige Male sahen wir auch, dass eine etwa eine Viertelstunde erhitzte Marktmilch während der nächsten Tage im Brutschranke unverändert blieb und öfters zeigte sich auch eine atypische Veränderung der Milch, indem die Gerinnung derselben nicht in der Art erfolgte, dass das Caseïn als von Gasblasen durchsetztes Gerinnsel an die Oberfläche geführt wurde; in diesen Fällen glich die Zersetzung mehr einer solchen, wie sie durch aërobe Milchsäurebacterien hervorgerufen wird, die Abscheidung des Caseïns war eine gleichmässige, und Gasblasen waren nur spärlich vorhanden oder waren überhaupt nicht zu erkennen.

Wenn wir die Milchproben durch längere Zeit aufbewahrten, so veränderte sich öfters deren Aussehen, indem manchmal allmählich eine Lösung des Caseïngerinnsels eintrat. Weitaus am häufigsten aber blieb letzteres durch Wochen und Monate hindurch völlig unverändert erhalten. In allen Fällen, in denen die Milchproben stürmisch vergoren waren, und öfters auch bei

Digitized by Google

»atypisch« verlaufender Gährung war ein deutlicher Geruch nach Buttersäure zu erkennen.

Ein käseartiger Geruch, als der Ausdruck der beginnenden Eiweisszersetzung, trat erst dann auf, wenn das ausgefällte Caseïn sich zu lösen begann. Alle vergorenen Milchproben reagirten auf Lackmus intensiv sauer.

Was die in den vergorenen Milchproben vorfindlichen Bacterien betrifft, so war durchaus nicht stets der gleiche Befund zu erheben. In vielen Fällen handelte es sich anscheinend um Reinculturen, in den meisten Fällen waren aber mehrere Arten zur Entwickelung gelangt. Zunächst wollen wir erwähnen, dass wir öfters facultativ anaërobe Bacterien in der vergorenen Milch antrafen. Bei der bekannten Widerstandsfähigkeit ihrer Sporen, die wir aus den Untersuchungen Flügge's über die peptonisirenden Milchbacterien kennen, wird es leicht verständlich sein, dass sie gelegentlich in der partiell sterilisirten Milch die Bedingungen zur Entwickelung fanden. Mit der typischen Gährung der partiell sterilisirten Milch haben sie aber nichts zu thun. Einige Male fanden wir sie zwar bei typischer Gährung in so grosser Menge, dass wir versucht waren, sie in ursächliche Beziehungen hiezu zu bringen. Dies lag in einigen Fällen um so näher, als wir culturell und durch die mikroskopische Beobachtung öfters sie allein nachweisen konnten. Doch konnten wir nicht daran festhalten, indem es uns niemals gelang, mit ihrer aus Platten gezüchteten Reincultur sterilisirte Milch in Gährung zu versetzen. Die durch letztere bewirkten Veränderungen der Milch waren ganz andere und unterschieden sich vor allem schon durch das Fehlen der Gasbildung in den Culturen. Was in den erwähnten Fällen zu einer stürmischen Gährung der Milch Veranlassung gab, blieb uns stets räthselhaft — vielleicht handelte es sich um Erscheinungen von Symbiose, vielleicht waren die eigentlichen Gährungserreger in so geringer Menge vorhanden, dass sie dem Nachweise entgehen konnten.

In der überwiegenden Anzahl der Fälle waren die facultativ anaëroben Bacterien in der vergohrenen Milch in der Minderzahl, nicht selten fehlten sie ganz.

Digitized by Google

Noch einmal sei hier betont, dass viele von den hier vorgefundenen Arten das coagulirte Caseïn zu peptonisiren im Stande sind, und dass in allen Fällen, wenn in den Milchproben nachträglich eine Lösung des Caseïngerinnsels sich vollzog, facultativ anaërobe Bacterien darin vorhanden waren.[1])

Viel grösseres Interesse beanspruchen die in der partiell sterilisirten Milch gewucherten streng anaëroben Bacterien, schon deshalb, weil dieselben als die Erreger der Milchgährung erkannt werden konnten und dann auch, weil sie in ungeheuerer Verbreitung vorkommen und thatsächlich auch in der Milch in etwa 80% aller Fälle gefunden werden konnten.

Wir sind bei der Isolirung derselben stets so vorgegangen, dass wir mit einigen Tropfen der gut gemischten Milch anaërobe Platten von 2% Traubenzuckeragar in zwei bis drei Verdünnungen anlegten.

Wir konnten in der Folge zwei Arten als die Erreger der in der Milch stattgehabten Buttersäuregährung eruiren, die jedoch nicht gleichmässig häufig gezüchtet werden konnten. Die eine Art, welche beweglich war, konnte nur zweimal unter etwa 80 Fällen vorgefunden werden, während in allen anderen Fällen, in welchen es gelang, anaërobe Bacterien zu isoliren, ein unbeweglicher Bacillus als Gährungserreger erkannt wurde.

Wir haben diese Art, wie wir noch begründen werden, Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens genannt und geben im Nachfolgenden deren ausführliche Beschreibung.[2])

1) Wegen der grossen praktischen Bedeutung wollen wir hier erwähnen, dass in 4—6 Wochen alten vergohrenen Milchculturen die facultativ anaëroben Bacterien bereits häufig zu Grunde gegangen sind, auch wenn sie anfangs sicher nachweisbar waren. Daraus ergibt sich, dass negativen Befunden in alten Culturen keine allzu grosse Bedeutung beigemessen werden darf.

2) Wir haben schon in unserer ersten Mittheilung die Ansicht ausgesprochen, dass möglicher Weise Flügge bei seinen Untersuchungen über die Anaëroben der Marktmilch ein Bacterium in Händen gehabt hat, das unserem Granulobacillus entsprach. Die wenig ausführliche Beschreibung, die Flügge gibt, besonders aber der Umstand, dass er unter den vier anaëroben Arten, die er unterscheidet, auch den Bacillus butyricus Botkin anführt, machen es uns ganz unmöglich, die Flügge'schen Ergebnisse mit zum Vergleiche heranzuziehen. Wir verweisen auf die Originalarbeit.

Digitized by Google

A. Allgemeine Wachsthumsbedingungen und morphologisches Verhalten des Granulobacillus immobilis.

Der Granulobacillus immobilis vermag nur unter streng anaëroben Bedingungen sich zu entwickeln. Die Temperaturbreite seines Wachsthums liegt zwischen 16 bis 18° und 39 bis 40° C.; sein Optimum liegt bei Bruttemperatur. Er ist unbeweglich. Dies ergab sich einmal aus dem Umstande, dass niemals (weder bei Luftzutritt noch in Wasserstoffatmosphäre) Eigenbewegung constatirt werden konnte. Dann konnten auch nach der Methode von Ermenghem niemals Geisseln dargestellt werden. Aeusseren Einflüssen gegenüber sind die Bacillen wenig widerstandsfähig; in den Culturen auf künstlichen Nährböden sterben sie daher, da gewöhnlich keine Dauerformen gebildet werden (s. u.), rasch ab. Es kann vorkommen, dass schon eine zweitägige Cultur nicht mehr mit Erfolg übertragen werden kann. Letzteres kann auch der Fall sein, wenn die Culturen dauernd unter Sauerstoffabschluss aufbewahrt werden Auf den meisten künstlichen Nährböden kann der Granulobacillus gezüchtet werden. Am meisten charakteristisch zeigte sich sein Wachsthum auf Zuckeragar, speciell auf Zuckeragarplatten, weshalb die Beschreibung seiner auf diesem Nährboden gebildeten Colonienformen hier zunächst gegeben werden soll.

Diejenigen Platten, welche viel vom Impfmaterial enthielten, waren diffus getrübt und zeigten in wechselnder Menge und Grösse Gasblasen, die stellenweise den Nährboden auf grössere Strecken hin von der Unterlage abhoben. Auf jenen Platten, welche mit weniger Material beschickt worden waren, entwickelten sich einzelne Colonien, denen je nach ihrer Lage im Nährsubstrat ein verschiedenes Aussehen zukam.

Dank der strengen Anaërobiose, die wir in der Botkinschen Glocke herstellen konnten, entwickelten sich stets Colonien, welche vollständig an der Oberfläche gelegen und in gewisser Hinsicht wohl charakterisirt waren.

Dieselben zeigen zwei verschiedene Typen, deren Extreme sich wie folgt darstellen.

Digitized by Google

Auf Platten des einen Typus (A) sind schon nach 16 bis 20 Stunden bis 1 mm im Durchmesser haltende, kreisrunde Oberflächencolonien zur Entwickelung gekommen, die ein compaktes, rundliches oder wetzsteinförmiges Vegetationscentrum besitzen; die Umgebung dieser centralen Partie erscheint granulirt (als Ausdruck sich überkreuzender Fadenschlingen); der Rand der Colonie bietet bereits bei 50facher Vergrösserung folgendes Aussehen: Es lösen sich von demselben allseits lange, gleichmässig dicke (in der Dicke dem Bacillendurchmesser entsprechende) Fäden los, die oft einzeln liegen, zahlreich parallel gebündelt sind und theils in sanften s-förmigen Windungen auswärts verlaufend einzeln frei endigen, theils rückläufig die Peripherie wieder gewinnen. Nach 48 Stunden haben die Colonien, wenn sie genügend isolirt stehen, die Grösse von 2 bis $2^1/_2$ mm im Durchmesser erreicht, die Schlingen am Rande erscheinen dann viel zahlreicher und dichter stehend, aber auch dann sind stets die Ausläufer resp. die einzelnen Bacillenketten deutlich getrennt.

Die Oberflächencolonien des zweiten Typus (B) besitzen im jugendlichen Zustande folgendes Aussehen: Die Colonien sind kreisrund, ihr centraler Antheil, dessen Durchmesser etwa $^2/_3$ des Gesammtdurchmessers misst, ist so wie beim Typus A granulirt. Hierauf folgt in raschem Uebergange eine hell durchscheinende Zone und der kreisrunde, haarscharfe, glatte oder feinst gezähnelte Rand ist regelmässig doppelt contourirt. Gewöhnlich liegen die beiden Contouren sehr nahe aneinander; bei der ausserordentlichen Zartheit der Randpartien konnten dieselben in der Photographie nur undeutlich zum Ausdrucke gebracht werden.

Hie und da erscheint die Zähnelung des Randes etwas ausgesprochener, und dann entsprechen wieder die einzelnen feinen Zacken isolirten Bacillen oder den Gliedern von kurzen Ketten. Aeltere, 48 Stunden alte Colonien zeigen im Wesen dasselbe Bild; immer bleibt der Rand scharf contourirt.

In einigen Fällen zeigen sich innerhalb der doppelten Randcontour drei bis vier bei verschiedener Einstellung der Linse

Digitized by Google

sichtbar werdende, in ziemlich regelmässigen Abständen gelegene Stufengrenzen.

Makroskopisch betrachtet, zeigen grössere Colonien des Typus A oft einen seidenartigen Glanz (ähnlich den Agarcolonien des Milzbrandbacillus), während die oberflächlichen Colonien des Typus B mitunter recht deutlich den Glanz drehrund polirter Flächen aufweisen.

Was die Häufigkeit beider Colonientypen betrifft, so hängt dieselbe zunächst von der Stammeseigenthümlichkeit ab. Wir haben Stämme isolirt, welche nach monatelanger Fortzüchtung auf den verschiedensten Nährböden mit zwischengeschobener Versporung fast ausnahmslos nur einen der beiden Typen aufwiesen. Dies war auch der Grund, weshalb wir anfangs glaubten, zwei Arten oder mindestens zwei scharf geschiedene Varietäten vor uns zu haben, worin wir auch noch durch andere Umstände (Grösse der Individuen! s. u.) bestärkt wurden.

Dann konnten wir aber wieder sehen, wie bei einem Stamm Uebergänge zwischen den zwei Colonientypen zur Beobachtung kamen, indem z. B. Colonien des Typus B o h n e scharfen Rand und mit von der Peripherie abgehenden kurzen wellenförmigen Ausläufern vorkamen. —

Die Colonien zwischen Agar und Glasschale zeigen im Allgemeinen ähnliche Beschaffenheit wie die oberflächlichen Colonien; regelmässig ist aber der Rand bei solchen des Typus B nicht scharf rund, sondern mehr oder minder ausgesprochen wellig, es kann sogar die Colonie dann ein ähnliches Aussehen gewinnen wie die Colonien des Typus A, indem aus den welligen Zügen sich kurze Schlingen loslösen.

Die in der Agarschicht liegenden Colonien des Granulobacillus sind rundlich oder wetzsteinförmig; auf dicht besäten Platten erscheinen die sehr kleinen Colonien ziemlich reichlich mit grobstachligen oder mehr haarförmigen Ausläufern besetzt, die oft nur an einer Stelle der Peripherie abgehen, während die anderen Antheile derselben glatt sind. Oftmals finden sich am Rande Höckerchen vor. Je grösser die Colonien werden, desto mehr verlieren sie ihre Ausläufer und erscheinen dann unregel-

Digitized by Google

mässig wetzsteinförmig; sobald sie die Oberfläche gewinnen, entwickelt sich daselbst das charakteristische Bild der Oberflächencolonien.

Die eben beschriebenen oberflächlichen und tiefliegenden Colonien des Granulobacillus sind nur zum Theile für denselben charakteristisch. Am ehesten kann man noch bei einiger Uebung die oberflächlichen Colonien als solche identificiren. Doch kommen im Boden (wohl auch in Milch) streng anaërobe Bacterien vor, deren oberflächliche Colonien den beschriebenen in ihrem Aussehen sehr nahe kommen; sehr wohl unterschieden sind sie von den Colonien der beweglichen Buttersäurebacillen.

Was die tiefliegenden Colonien betrifft, so sehen nicht nur jene der beweglichen Buttersäurebacillen genau ebenso aus, sondern es gibt auch noch eine Anzahl von facultativ anaëroben Bacterien, wie sie in Milch häufig vorkommen, deren tiefliegende Colonien jenen des Granulobacillus völlig gleichen. Hieraus ergibt sich, dass es ganz unmöglich ist, aus einem für den Granulobacillus nicht specifisch angereicherten Material durch Untersuchen resp. Zählen in der Agarschicht selbst liegender Colonien zu einem Urtheil über das Vorherrschen der einen oder andern Art zu kommen.

Aber auch in einer z. B. nach Botkin angereicherten Milch sind mitunter noch so viele fremde Bacterienspecies mit zur Entwicklung gekommen, dass hiefür das Nämliche gilt wie für die Untersuchung eines nicht weiter verarbeiteten Ausgangsmaterials.

Ausser den distincten Colonien sieht man noch regelmässig auf den Platten diffuse Infiltrationen des Nährbodens mit Gasblasen, welche zum Theil in den Randbuchten bacterienhaltige Flüssigkeit enthalten, — aber in keiner Weise für den Granulobacillus immobilis charakteristisch sind[1]).

1) Nur in einer Beziehung kann ihre Beobachtung wichtig sein. Mikroskopirt man nämlich solche diffuse Infiltrationen von beweglichen Arten, — welche den beschriebenen makroskopisch völlig gleichen, — so lässt sich in 24stündigen Culturen unmittelbar nach der Herausnahme aus der Botkinschen Glocke bei 50facher linearer Vergrösserung die Bewegung der Individuen als flimmernde Lichterscheinung deutlich erkennen. Handelt es sich hingegen um die Cultur des Granulobacillus immobilis, so sieht man von

Digitized by Google

Auf Platten von Peptonagar ohne Zucker haben die Colonien dasselbe Aussehen, nur fehlt der Geruch nach Buttersäure und die Gasbildung ist eine weniger lebhafte, so dass es nur selten zu Abhebungen des Nährbodens kommt.

Auf Platten von Zuckergelatine kommt der Granulobacillus nur dann kräftig zur Entwicklung, wenn die Temperatur mindestens 22 bis 23° C. beträgt. Es entwickeln sich dann darauf rundliche, compakte Colonien, welche nach 8 Tagen 2 mm im Durchmesser erreichen und um diese Zeit von einem mehrere Millimeter breiten klaren, oder in dem der Colonie naheliegenden Antheil trüben Verflüssigungshof umgeben sind. Bei 50facher Vergrösserung zeigen sich die Colonien deutlich granulirt und in sehr ungleichem Grade am Rande mit kurzen, haarförmigen, manchmal verfilzten Ausläufern versehen, welche stets einen geringeren Dickendurchmesser zeigen als die Ausläufer der Colonien auf Agar.

Auf Zucker-Schrägagar entwickelt sich je nach Reichlichkeit des Materials ein mehr oder minder massiger weisser Rasen oder einzelne Colonien, die dann den Oberflächencolonien auf Agarschalen entsprechen. Es gelingt übrigens nur bei Einhaltung strengster Anaërobiose, auf Schrägagar Culturen zu erzielen; ist hiefür nicht genügend gesorgt, tritt nur Schaumbildung und Trübung im Condenswasser, gelegentlich auch Wachsthum zwischen Glas und Agar auf.

Im Zuckeragarstich entwickelt sich bei Bruttemperatur schon innerhalb der ersten 24 Stunden, bei schwächerer Wachsthumsenergie in selteneren Fällen wohl auch erst nach 36 bis 48 Stunden ein gleichmässig dicker oder leicht höckerig begrenzter Faden, der je nach der Culturmethode und gewiss auch abhängig von dem Umstande, wie weit der Nährboden durch das Auskochen luftfrei gemacht werden konnte, verschieden nahe der Oberfläche endet. Die ganze Cultur ist, wenn es sich um einen

Anfang an die Fäden und Ketten starr und bewegungslos an Ort und Stelle verharren. Es hat diese Methode der Beobachtung den Vortheil, dass die bei Anfertigung eines hängenden Tropfens entstehenden unliebsamen Strömungen hiebei in Wegfall kommen.

Digitized by Google

kräftigen Stamm handelt, von Gasblasen durchsetzt, wodurch aber nur selten eine Zerklüftung des Nährbodens in ausgiebigerem Maasse bewirkt wird. Manchesmal, vielleicht auch abhängig von der Beschaffenheit des nicht stets gleichmässig gut gelungenen Zuckeragars, sieht man nur spärliche Gasblasen, und die Entwicklung der Bacillen erreicht schon nach kurzer Zeit ihren Höhepunkt.

Im Zuckergelatinestich ist die Entwicklung selten eine gleichmässige. In günstigen Fällen schon nach 48 Stunden, gewöhnlich aber erst später, entwickelt sich ein weisser Faden oder eine kleine Kette von grob-krümeligen Massen, welche bei weiterem Wachsthum die Gelatine trichterförmig verflüssigen; am Boden des Verflüssigungstrichters liegt dann die Cultur. Manchesmal setzt die Verflüssigung in träge wachsenden Culturen sehr spät ein; man darf sich aber hiedurch nicht täuschen lassen; erzielt man durch häufigeres Uebertragen eine bessere Wachsthumsfähigkeit des betreffenden Stammes, so kehrt auch das Peptonisirungsvermögen in erhöhtem Maasse zurück.

Wider Erwarten gut gelang die Cultur auf sterilisirten Kartoffelscheiben. Bei strengster Anaërobiose (Botkinsche Glocke) und bei Bruttemperatur gehalten, zeigen diese auf ihrer Oberfläche nach 8 Tagen nur geringfügige Veränderungen, indem, deutlich sichtbar, stellenweise kleinste, gelblichweisse, opake Knöpfchen auftreten. Die Consistenz des geimpften Antheils der Scheibenoberfläche ist gegenüber den nicht beschickten Partien etwas vermindert. Mit der Oese gelingt es leicht, breiige Massen von der Oberfläche abzustreifen; man sieht dann bei der mikroskopischen Untersuchung, dass auch auf den anscheinend steril gebliebenen Stellen reichliche Vermehrung Platz gegriffen hat.

Bei den Culturen in flüssigen Nährmedien (wir wollen dies des Zusammenhangs halber hier einschieben) erfuhren wir, wie anspruchsvoll der Granulobacillus hinsichtlich gewisser Wachsthumsbedingungen auf künstlichen Nährböden ist. In eiweiss- resp. peptonfreien Nährlösungen war er unter keinen Bedingungen zu einem nur halbwegs regen Wachsthum zu bringen. Dies misslang ebenso vollständig in künstlichen Nährlösungen (Uschinsky)

Digitized by Google

wie in peptonfreier Bouillon. Sogar wenn man zu einem peptonfreien Nährboden Zucker- oder Stärkelösung setzte, war der Erfolg kein günstigerer[1]). Es scheint also der Granulobacillus nicht im Stande zu sein, aus einfachen Stickstoffverbindungen (Ammonsalzen, Fleischbasen) seine Leibessubstanz aufzubauen.

Nicht ganz so anspruchsvoll wie hinsichtlich des Peptongehaltes ist er in Bezug auf gebotene Kohlehydrate. Während er auf zuckerfreiem Nähragar (peptonhaltig) ziemlich üppig gedeiht, bleibt zucker- resp. stärkefreie Peptonbouillon fast stets steril. Nur einige Male zeigte sich als Ausdruck eines kümmerlichen Wachsthums eine feine wolkige Trübung in den Culturen. Dieses kümmerliche Wachsthum resp. die vollständige Sterilität waren stets zu beobachten, wenn wir in die Bouillon geringe Mengen Impfmaterials, speciell geringe Mengen des alten Nährbodens übertrugen. Uebertrugen wir reichliche Mengen, insbesondere von gährenden Flüssigkeiten (2 bis 4 Tropfen gährender Milch oder ebensoviel von Traubenzuckerpeptonbouillon), so zeigte sich auch in Bouillon manchesmal üppiges Wachsthum des Granulobacillus, einhergehend mit starker Schaumbildung. Ob letzteres auf einer nachträglichen Vergährung mit übertragenen, noch unzersetzten Materiales beruhte, oder ob die geringen Mengen von Zucker nur dazu dienten, das Wachsthum der Bacillen einzuleiten, blieb uns weiter unbekannt. Wichtig ist ja doch nur, dass für ihre Entwicklung überhaupt leicht assimilirbare Kohlenhydrate fast unumgänglich nothwendig sind. Besser war die Entwicklung in 2proc. Glycerinpeptonbouillon, wobei nur geringe Mengen von Gasen gebildet wurden.

In Stärke- und Zucker-Peptonbouillon — wobei Stärkekleister, lösliche Stärke und Dextrose, Saccharose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Laktose in solcher Menge zugesetzt wurden, dass sie in 2proc. Lösung vorhanden waren — war das Wachsthum des Granulobacillus ein vorzügliches. Ob einzelne Zucker

1) Ganz dasselbe wie für die flüssigen Nährböden gilt hinsichtlich des Eiweiss- resp. Peptongehaltes von den festen Nährsubstraten. Wir haben nun wegen der grösseren Bequemlichkeit an ersteren die Wachsthumsbedingungen studirt.

Digitized by Google

bevorzugt werden, möchten wir, da die Ergebnisse zu sehr schwankend waren, nicht strikte behaupten. Nur eines schien uns sicher, dass der Milchzucker in Bouillon schwerer angegriffen wurde als der Traubenzucker.

Ueber das Wachsthum in sterilisirter Milch und das Aussehen der Milchculturen braucht an der Stelle nicht viel mehr gesagt zu werden.

In jungen kräftigen Culturen wurde die Milch gewöhnlich in der Weise verändert, wie die partiell sterilisirte (nach Botkin behandelte) Milch, bei »typischer« Gährung; unter Entwickelung reichlicher Gase wurde sie zur Gerinnung gebracht und das Caseïn durch dieselben an die Oberfläche geführt. In einigen Fällen, namentlich bei Stämmen von geringerer Wachsthumsenergie, wurden weniger Gase gebildet; infolge dessen war auch die Gerinnung des Caseïns mehr eine gleichmässige.

Sterilisirte Milch ist für den Granulobacillus einer der ihm am meisten zusagenden Nährböden; interessant hiebei ist, dass offenbar der Milchzucker hier viel leichter angegriffen wird als in einer damit versetzten Peptonbouillon.

Morphologie der Individuen.

Der Granulobacillus immobilis zeichnet sich durch eine grosse Vielgestaltigkeit der Formen aus.

Soweit unsere Erfahrungen reichen, bestehen Beziehungen zwischen diesen und äusseren oder inneren Einflüssen in dreierlei, leicht verfolgbarer Richtung; die Morphologie steht in Beziehungen:

1. zu Eigenthümlichkeiten, welche dem betreffenden Stamme (Race) zukommen,
2. zu gewissen speciellen Nährbodenverhältnissen, welche die Versporung herbeiführen resp. begünstigen,
3. zu der Art des Nährsubstrats (Agar, Gelatine, Kartoffel etc.).

Den normalen Typus (wenn wir so sagen dürfen) des Granulobacillus immobilis repräsentiren jene Formen, welche auf Zuckeragarculturen sich entwickeln. Auf letzterem Nährboden unterbleibt bei dieser Art fast regelmässig die Versporung, weshalb die

Digitized by Google

hiemit verbundenen Aenderungen der Form hier nicht zur Beobachtung kommen.

Verschieden sind die Formen auf Zuckeragar entsprechend dem Typus der Oberflächencolonien, was theilweise mit der Stammeseigenthümlichkeit, wie schon auseinandergesetzt, zusammenhängt.

Präparate von 24 Stunden alten Oberflächencolonien des Typus A (Colonien mit langen Randschlingen) zeigen im hängenden Tropfen vollkommen unbewegliche, in der Mehrzahl gleichmässig dicke, gestreckte Bacillen mit leicht abgerundeten Enden. Der Querdurchmesser der meisten Stäbchen schwankt zwischen 1,0 und 1,4 μ, ihre Länge zwischen 7 und 11 μ.

Sehr zahlreich, oft überwiegend, finden sich die Stäbchen zu Ketten von drei bis sechs und mehr Gliedern verbunden; in den Ketten erscheinen die aneinanderstossenden Enden der Individuen weniger abgerundet, mehr abgestutzt, und letztere stossen gewöhnlich in sehr stumpfen Winkeln zusammen. Häufig sieht man auch ungegliederte, 20 bis 50 μ lange Scheinfäden. Das Plasma des jugendlichen Bacterienleibes zeigt sich im nativen Präparat gleichmässig hell, ohne Granula.

Präparate aus Colonien vom Typus B (mit glattem oder leicht gezähneltem Rand) zeigen in der Mehrzahl der Fälle Bacillen, die kürzer und häufig auch schmäler sind als diejenigen einer Colonie vom Typus A.

Auch die hier spärlicher vorhandenen Ketten bestehen aus kürzeren Elementen, ihre Glieder stossen in viel weniger stumpfen Winkeln aneinander, was auf den Photogrammen deutlich zum Ausdrucke kommt.

Bei beiden Typen finden sich dann fast stets, aber sehr vereinzelt, abnorm kurze (2 bis 3 μ) und breite (bis 1,7 μ) Exemplare von ovaler Gestalt.

Weiter stösst man nicht selten bereits in ganz jungen Culturen (8 Stunden alt) auf abnorme Formen, indem halbmondförmige, an den Enden kolbig verdickte Exemplare und anderseits solche beobachtet werden, die in einer Strecke ihres Verlaufs scheinbar aus kurzen, dicht zusammengeschobenen Scheibchen bestehen;

Digitized by Google

dazwischen gibt es alle möglichen Uebergänge. Bei genauerem Zusehen erkennt man, dass die Scheibchen nur der Ausdruck einer sehr dichten schraubigen Aufdrehung des Bacillenkörpers sind. Dies alles gilt für die Beobachtung im hängenden Tropfen.

In Zuckergelatine bilden sich durchschnittlich etwas schmälere Stäbchen, und die Neigung zur Scheinfadenbildung herrscht vor. Abnorm lange Scheinfäden findet man in alten Zuckergelatineculturen, in denen die Gährung infolge Kreidezusatzes und wegen verhältnismässig niederer Temperatur wochenlang gleichmässig vor sich geht; besonders trifft man dies bei Stämmen mit ausgesprochenem Charakter des Typus B an.

In Milch (ohne Kreidezusatz) trifft man überwiegend 3 bis 8 μ lange, bis 1,5 μ dicke Stäbchen an. Racen, welche auf Zuckeragar den ausgesprochenen Charakter des Typus B besitzen, unterscheiden sich in Milch nicht so besonders hinsichtlich der Grösse ihrer Individuen, bilden aber doch meist etwas kürzere (3 bis 5 μ) und schmälere (0,8 bis 1,2 μ) Stäbchen.

Besonders dicke und kurze Bacillen bilden sich auf Kartoffeln. Als Maasse seien hier Aufzeichnungen von einem Parallelversuche angegeben.

Typus B. Individuen 5 bis 6 μ lang, 1,5 bis 2 μ dick.

Typus A. Neben Exemplaren von den angegebenen Dimensionen noch reichlich sehr dicke, bis 12 μ lange Stäbchen.

In 8 Tage alten Kartoffelculturen zeigten fast alle Bacillen ein stark differenzirtes Plasma.

In Zuckerbouillon wiesen die Bacillen nichts Charakteristisches auf.

Der Granulobacillus immobilis färbt sich leicht und gleichmässig mit den gebräuchlichen Anilinfarben. Der Behandlung nach Gram unterzogen, bleiben die Bacillen gefärbt. Immerhin gehört der Granulobacillus zu jenen Bacterien, welche bezüglich der Gramfärbung an der Grenze stehen; hat man das Präparat länger entfärbt, so finden sich mitunter blasse Exemplare, in anderen Bacillen ist die Färbung lückenhaft.

Digitized by Google

Sporenbildung.

Obwohl durch die Art der Gewinnung — aus hocherhitzter Milch — sichergestellt war, dass der Granulobacillus immobilis endogene Sporen bildet, konnten wir doch lange Zeit auf den künstlichen Nährböden Sporenbildung nicht hervorrufen. Während die meisten obligaten Anaërobier, auch die beweglichen Buttersäurebacillen, ohne besonderes Zuthun in Zuckerbouillon, auf Zuckeragar glatt versporen, war für den Granulobacillus immobilis, auch wenn wir die Bedingungen variirten, dies anfangs nicht zu erzielen. Aenderungen im Peptongehalt, die mannigfaltigsten Nährböden, wie wässerige Auszüge aus Boden, Kuhfäces, — destillirtes Wasser, erwiesen sich als belanglos und ungeeignet für unsere Zwecke.

Nur ganz vereinzelt konnten wir gelegentlich freie Sporen in Stärkeculturen nachweisen, wir sahen aber niemals in den Bacillen gelegene Sporen und konnten so gar keinen Aufschluss über den Charakter der Sporenbildung erlangen.

Nach zahlreichen, systematisch angelegten Versuchen ist es uns erst in der letzten Zeit gelungen, den Granulobacillus zu einer sicheren und reichlichen Versporung anzuregen.

Am zweckmässigsten geht man hiebei folgendermaassen vor: Man bereitet sich einen neutralen Stärkekleisteragar, welcher im Liter 1 g käufliche Reisstärke enthält; nach wiederholter Sterilisirung alkalisirt man eine Anzahl von Röhrchen, die je 10 ccm hievon enthalten, indem man in den neuerdings verflüssigten Nährboden abgestufte Mengen von $^1/_5$ Normal-Natronlauge einbringt. Gewöhnlich reicht man mit 4 bis 6 Proben aus, welchen zwischen 5 und 20 Tropfen Natronlauge von der angegebenen Concentration zugesetzt waren. Ein derart alkalisch gemachter Stärkeagar ist nun der weitaus geeignetste Nährboden für die Versporung des Granulobacillus, indem letztere ohne grosse Schwierigkeiten und in kürzester Zeit unter solchen Umständen einsetzt[1]). Die Variirung des Alkaligehalts ist deshalb nöthig,

1) Nicht belanglos schien uns hiebei zu sein, bei der Impfung mit der Nadel vorsichtig einzustechen, damit das Wachsthum der jungen Cultur auf einen Stichcanal beschränkt bleibt.

Digitized by Google

weil das Alkalioptimum für die Versporung durchaus nicht constant ist. In einem Falle konnten wir Versporung in einem Stärkeagar erzielen, welcher nach der Neutralisation 0,5‰ Aetznatron enthielt, in anderen Fällen zeigte sich Sporenbildung erst bei höherer Alkalescenz.

Es kann auch vorkommen, dass in mit freiem Alkali abgestuft alkalisch gemachtem Stärkeagar die Versporung bei höheren Alkalescenzgraden trotz Wachsthums der Bacillen ausbleibt, hingegen bei niedereren zur Beobachtung kommt. Es spielen zum Theile eben hiebei noch eine Reihe von im Einzelfalle nicht verfolgbaren Einflüssen eine Rolle.

Im allgemeinen konnte festgestellt werden, dass die Versporung am besten bei Bruttemperatur verläuft, weiter dass, wenn das Wachsthum sehr rasch und stürmisch erfolgt, von vornherein die Aussichten auf ein günstiges Resultat schlechtere sind, resp. dass der für die Versporung geeignete Alkalescenzgrad dann schwieriger getroffen wird. Der Grund hiefür, sowie für manche andere überraschende Anomalien beim Versporungsprocesse dürfte in dem Umstande liegen, dass die für die Versporung jeweils nöthige Menge von freiem Alkali durch die beim Wachsthum der Cultur gebildeten Säuren (Buttersäure und Rechtsmilchsäure, vielleicht auch Kohlensäure) in dem Maasse abgestumpft wird, als die Entwicklung fortschreitet. Ist letztere — bedingt durch eine von Anfang an relativ hohe Alkaliconcentration und vielleicht auch infolge einer nicht allzu lebhaften Wachsthumsenergie — eine langsame, stetige, so wird die unumgänglich nöthige Alkalibreite durch ausreichend lange Zeit erhalten bleiben können.

Bereits in ganz jungen Culturen (7 bis 10 Stunden alt) zeigt sich die Einleitung der Versporung, indem fast alle Individuen, welche späterhin Sporen tragen, bereits in diesem Stadium veränderte Formen aufweisen.

Mikroskopirt man von einer solchen jungen, makroskopisch noch nicht sichtbaren Cultur ein Präparat, so zeigt sich bei günstig gewähltem Object ein ganz überraschendes Bild.

Digitized by Google

Statt der gewohnten gleichmässig dicken Stäbchen und Ketten zeigen sich, oft ungemein zahlreich, tonnenförmige, bis 2 μ dicke, 5 μ lange Gebilde, daneben besonders dicke, längere Stäbchen, von welch' letzteren einige je eine endständige, rundliche oder ovale, stärker lichtbrechende junge Spore tragen.

Untersucht man die Cultur 24 Stunden nach der Aussaat, so finden sich reichlicher endständig sporentragende Stäbchen und im günstigsten Falle auch Tonnenformen mit mittelständigen Sporen.

Bekanntlich lagert sich zur Zeit der Sporenbildung in den Leibern der beweglichen Buttersäurebacillen (Granulobacter Beijerink) Granulose ab, eine amylumähnliche Substanz, welche mit Jod sich blauviolett färbt. Behandelt man nun ein Sporenpräparat unseres Bacillus mit Jodlösung, so zeigen sich viele der sporenfreien Stäbchen röthlich gelb bis braunroth gefärbt, die sporentragenden Stäbchen manche im sporenfreien Theil. Echte (reife) Granulose, die sich mit Jod blau färbt, findet man in diesem Stadium in 24stündigen Stärkeagarculturen gewöhnlich noch nicht. Hingegen kann sie reichlich zur Beobachtung kommen, wenn man die Cultur nach weiteren 24 Stunden untersucht. In einem solchen Falle — der freilich nicht regelmässig eintritt — findet sich dann der ganze reiche Formenkreis, der bei den beweglichen Buttersäurebacillen gesehen wird.

Derartige Präparate, fixirt und mit Lugoll'scher Lösung behandelt, zeigen vereinzelt diffus dunkelgelb gefärbte Stäbchen, daneben Doppelstäbchen, die auffallend dick, an den Enden zugespitzt, diffus dunkelgelb gefärbt sind und ausserdem in ihrem Innern einzelne blauschwarze Granula tragen. Dann finden sich kleine Spindelformen, die mit Freilassung eines mittleren Abschnittes ganz von blauschwarz gefärbter Granulose erfüllt sind; dann wieder 1 bis 2 μ dicke, lange, gleichmässig in toto oder mit Freilassung eines endständigen, kuppenförmigen Raumes intensiv blau gefärbte Stäbchen; weiter kürzere und schmälere Stäbchen, die an beiden Enden Granulose führen und ganz kurze

Digitized by Google

Ketten von plumpen Stäbchen, die in ihren mittleren Antheilen gänzlich von Granulose erfüllt sind.

Stellenweise findet man Tonne-, Stäbchen- und Spindelform, stets mit Granulose in verschiedener Form erfüllt, in gerader Kette zu einem abenteuerlich aussehenden Gebilde vereinigt.

Besonders lenken dann noch wahre Riesengebilde von 7 μ langen, 4 μ breiten Tonnen die Aufmerksamkeit auf sich, die völlig von einem blauschwarz gefärbten Granuloseballen erfüllt sind.

Interessant ist, dass die meisten der mit Jod sich blau färbenden Bacillen sporenfrei sind; sporentragende Spindelformen färbten sich auf Jodzusatz entweder gelb oder im sporenfreien Theil rothbraun, wenigstens kamen nur solche zur Beobachtung.

Nicht stets, wie erwähnt, kommt es nach etwa 48 Stunden zur Ablagerung von echter, mit Jod blau färbbarer Granulose in den Stärkeculturen. Sehr häufig trifft man um diese Zeit wieder Stäbchen und Ketten von normaler Form, ohne Granula, ohne Jodreaction und ohne Sporen an, gegenüber welchen die versporten und zur Versporung sich anschickenden Stäbchen an Zahl ganz zurücktreten; auch freie Sporen sieht man nur spärlich. Der Charakter des ganzen Bildes ist geändert; man hat den Eindruck, dass der Versporungsprocess mit der Bildung der mit Jod rothbraun färbbaren Substanz (Erytrogranulose) seinen Abschluss gefunden und auf dem veränderten Boden sich nun eine neue Generation entwickelt hat, welche die Bedingungen für eine Versporung nicht mehr vorfindet und daher ihre gewöhnlichen regelmässigen Formen entwickelt.

Ausser den schon erwähnten Unregelmässigkeiten beobachtet man auch noch gelegentlich, speciell in Stärkebouillon, gut entwickelte Granulose, aber rudimentäre Versporung. Man sieht Bilder, welche darauf hinweisen, dass im gegebenen Falle eine reichlich eingeleitete Versporung durch Einfluss geänderter Bedingungen nicht zum Abschluss gekommen ist. Man sieht in solchen Fällen ganze Büschel eigenthümlich geformter Spindeln. Dieselben sind in ihrem Mitteltheile sehr schlecht

Digitized by Google

färbbar, dabei oft wie gequollen, oder an anderen Stellen unregelmässig geschrumpft. Die Enden der Spindeln tragen fast ausnahmslos Granulose. Von Sporen war in solchen Fällen nichts zu sehen, und andererseits fehlten auch normale Stäbchen vollständig.

Wir haben schon erwähnt, dass die Gegenwart des freien Alkali nöthig zu sein scheint, um eine reichliche Versporung des Granulobacillus zu veranlassen, und dass, wenn dasselbe durch die gebildete Säure neutralisirt ist, sich wieder eine normale Generation entwickelt. Es scheint nun, dass ausser der freien Säure auch noch andere Stoffwechselproducte der Versporung hinderlich sind, wenn sie in reichlicher Menge gebildet werden, indem es in keinem Falle gelang, durch nachträgliche Neutralisation oder Alkalisirung junger, lebhaft gährender Stärkecultüren weiterhin eine Aenderung des morphologischen Charakters, eine Versporung zu bewirken.

Alkalisirt man statt Stärkekleisteragar 1 % Zuckeragar in der angegebenen Weise, so gelingt es nur ausnahmsweise, Sporen zu beobachten.

Vielleicht erklärt sich dies so, dass der Granulobacillus die für die Versporung anscheinend nöthige — zweifellos damit eng im Zusammenhange stehende — Granulose leichter aus der Stärke als aus Zucker zu bilden vermag, doch können auch andere Einflüsse, die wir nicht kennen, hiefür von Bedeutung sein.

Besonders bemerkenswerth ist jedenfalls, dass schon geringe Zusätze von Kohlehydraten — besonders verkleisterter Stärke — in der angegebenen Weise Versporung herbeiführen können.

Alte Culturen versporen niemals; bleibt die Versporung innerhalb der ersten 24 bis 48 Stunden aus, so tritt sie auch später niemals ein.

Stets wurden für die Versporungsversuche die Culturen im Buchnerrohre gehalten. Die freien Sporen sind oval, bis 2,0 μ breit, bis 2,3 μ lang. Ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen ist eine ausserordentlich hohe. Dies konnten wir einmal schon daraus entnehmen, dass in einer grösseren Versuchsreihe etwa 25 % der Milchproben nach 1½stündigem Erhitzen im

Digitized by Google

strömenden Dampfe nach 30 bis 48 Stunden noch typische Gährung aufwiesen und aus denselben der Granulobacillus (fast in Reincultur) gezüchtet werden konnte; dann stellten wir aber noch speciell mit reinem Sporenmateriale Versuche an; hiebei gelangten wir zum gleichen Resultat.

Sporen in Stärkebouillonröhrchen, durch eine Stunde in lebhaft siedendem Wasser gehalten, zeigten sich noch normal entwickelungsfähig.

B. Physiologisch-chemisches Verhalten des Granulobacillus immobilis.

Noch deutlicher als das Studium der Morphologie, namentlich der Sporen- und Granulosebildung, liess die Untersuchung des chemisch-physiologischen Verhaltens die Zugehörigkeit unseres Granulobacillus immobilis zur grossen Gruppe der Buttersäurebacillen erkennen. Freilich liegen hier die Verhältnisse nicht so einfach, dass unter allen Umständen grosse Mengen von Buttersäure durch seine Gährthätigkeit entstünden; aber bei Auswahl des richtigen Mediums und unter gewissen, noch nicht näher zu definirenden Bedingungen charakterisirt er sich als exquisiter Buttersäurebacillus. Die innige Verwandtschaft mit den beweglichen Buttersäurebacillen ist hauptsächlich darin zu erkennen, dass vom Granulobacillus immobilis und von letzteren die gleichen Gährproducte gebildet werden; es entstehen ausser Buttersäure bei beiden Gährungen Kohlensäure, Wasserstoff und — dies ist in verschiedener Hinsicht hochinteressant — Rechtsmilchsäure. Letztere, als regelmässig gebildetes Nebenproduct der Buttersäuregährung, ist bisher, obwohl sie hiebei öfters in sehr grossen Mengen entsteht, von keinem der Autoren gefunden worden.

Für den Granulobacillus immobilis stellt sich nun die Sache so, dass weitaus in den meisten Fällen unter den meisten der wechselnden äusseren Bedingungen grössere Mengen von Rechtsmilchsäure entstehen als von Buttersäure. Dass wir trotzdem unserem Granulobacillus das Beiwort saccharobutyricus geben,

Digitized by Google

rechtfertigt sich aus den oben angeführten Gründen, im Hinblicke auf seine verwandtschaftlichen Beziehungen, wohl von selbst.

Die nächstliegende Vermuthung für das Entstehen der Buttersäure bei der durch den Granulobacillus veranlassten Gährung war wohl die, dass zuerst nur Milchsäure gebildet und dann ein Theil derselben in Buttersäure übergeführt würde; sie musste aber sofort fallen gelassen werden, da der Granulobacillus nicht im Stande ist, Milchsäure zu vergähren. Er gehört zu jenen Buttersäurebacillen, denen diese Fähigkeit fehlt, indem er ausschliesslich aus Kohlehydraten (Stärke und Zucker), vielleicht auch aus einigen Alkoholen (Glycerin) Buttersäure zu bilden im Stande ist.

Der Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens vergährt also Stärke (ungelöst und in löslicher Form), Dextrose, Saccharose, Galaktose, Laktose, Maltose, Lävulose, wahrscheinlich auch Melibiose, Arabinose und Raffinose und bildet hieraus die erwähnten Gährproducte. Es entstehen hiebei weder diastatische noch invertirende Enzyme. Cellulose, milchsauere Salze, Mannit greift er weder in reiner, noch in mit geringen Mengen Zucker versetzter Peptonbouillon an. Glycerin vergährt er, ohne aber grössere Mengen hievon zersetzen zu können, zu flüchtiger Säure (nicht näher untersucht) und zu Aldehyden.

Ausser den schon erwähnten Gährproducten — Buttersäure, Rechtsmilchsäure, Kohlensäure und Wasserstoff — bildet er gelegentlich noch geringe Mengen von Alkoholen; doch fehlen letztere in vielen Fällen vollständig.

Erwähnt soll noch werden, dass die vom Granulobacillus gebildete flüchtige Säure nicht reine Buttersäure ist, sondern dass auch geringe Mengen von Ameisensäure und vermuthlich auch von Essigsäure (Proprionsäure?) gebildet werden. Vielleicht entstehen auch (s. u. Analysen) Spuren von Valeriansäure.

Zur Untersuchung der Gährproducte bedienten wir uns folgender Methodik: Die 8 Tage bis 3 Wochen alte Cultur, nach einer der schon beschriebenen anaëroben Methoden angelegt und auf ihre Reinheit geprüft, wurde filtrirt, pro Liter — gewöhnlich wurden 1 bis 3 l verarbeitet — mit 25 bis 40 cem einer im

Digitized by Google

Verhältnisse von 1 : 3 mit Wasser verdünnten Schwefelsäure versetzt und über Nacht stehen gelassen Am andern Tage wurde vom auskrystallisirten Gyps (der Kalk stammte von der den Culturen zugesetzten Kreide) abgegossen und im Wasserdampfstrom eine der im Destillirkolben befindlichen gleichkommende Menge abdestillirt. Das eventuell Alkohole und flüchtige Säuren enthaltende Destillat wurde mit Aetzbarytlösung schwach alkalisch gemacht, der Ueberschuss von Aetzbaryt wurde durch Einleiten von Kohlensäure in kohlensauren oder sauren kohlensauren Baryt übergeführt, und dann wurde abermals destillirt. Hiebei wurden die ersten 200 ccm gesondert aufgefangen und die Destillation so lange fortgesetzt, bis im Kolben nur mehr 2—400 ccm zurückblieben. Der Rückstand wurde filtrirt und das Filtrat auf kochendem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft; der Trockenrückstand repräsentirte das Barytsalz der flüchtigen Säuren.

Die zuerst aufgefangenen 2—400 ccm, in denen die Alkohole enthalten sein mussten, wurden (manchmal nach vorangegangener Sättigung mit Pottasche) nochmals destillirt und das Destillat (50 bis 100 ccm) mit Pottasche im Ueberschusse versetzt. Hiebei mussten die ausgesalzenen Alkohole, sofern sie in nur halbwegs nennenswerther Menge vorhanden waren, auf der Oberfläche der Salzlösung schwimmen.

Jene Flüssigkeit, von der das erste Destillat (flüchtige Säuren und Alkohole) gewonnen war, wurde behufs Prüfung auf nicht flüchtige Säuren mit Natronlauge neutralisirt und bis auf etwa 500 ccm eingedampft. Nach dem Erkalten wurde mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert und im Schacherl'schen Extractionsapparate mit Aether extrahirt. Wir haben uns davon überzeugt, dass in weitaus den meisten Fällen eine durch eine Woche in lebhaftem Tempo geleitete Extraction vollständig zur quantitativen Gewinnung der nicht flüchtigen Säuren ausreichte. Die ätherische Lösung wurde hierauf bis zum Verdampfen des Aethers gelinde erwärmt, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen und mit Kreide abgesättigt. Das klare Filtrat wurde dann entweder stehen gelassen, wobei allmählich der

Digitized by Google

milchsauere Kalk in schönen Drusen auscrystallisirte, oder es wurde mit Alkohol und Aether vorsichtig gefällt, wobei in viel kürzerer Zeit gleichfalls Crystallisation erfolgte.

Analysirt wurden zum Theil die Barytsalze der flüchtigen Säuren, zum Theil wurden von letzteren die Silbersalze gemacht; im ersteren Falle wurde durch Abrauchen des Salzes mit Schwefelsäure der Baryt als schwefelsaurer Baryt bestimmt, im zweiten Falle wurde einfach verascht, die Asche als metallisches Silber gewogen. In einem Falle haben wir die Silbersalze fractionirt gefällt.

Die nicht flüchtigen Säuren wurden gewöhnlich als Kalksalz bestimmt; in einzelnen Fällen wurde aber letzteres in das Zinksalz übergeführt. Dies geschah entweder dadurch, dass wir die Lösung des Kalksalzes neuerdings mit Schwefelsäure zersetzten, ausätherten und mit Zinkoxyd oder Zinkcarbonat behandelten, oder auf die Weise, dass wir mit äquivalenter Menge Oxalsäure den Kalk wegschafften und im Uebrigen wie oben verfuhren.

Das Zinksalz bot gegenüber dem Kalksalze den Vortheil, dass es eine genauere und besser controlirbare Analyse ermöglichte, indem ausser dem Metallgehalte auch noch Drehung und Crystallwassergehalt in quantitativ verwerthbarer Weise bestimmt werden konnten. Das Kalksalz wurde, gleich dem Barytsalz der flüchtigen Säuren, mit Schwefelsäure abgeraucht, das Zinksalz einfach verascht und als Zinkoxyd gewogen. Die nicht flüchtige Säure stellte sich nach den Analysen als reine Rechtsmilchsäure dar.

Am ausgedehntesten sind unsere Erfahrungen über die Gährthätigkeit des Granulobacillus in Milch; wir haben wohl mehr als 40 einzelne Gährungen — wenigstens hinsichtlich der Mengen der gebildeten nicht flüchtigen und flüchtigen Säuren — untersucht.

In Milch charakterisirt sich der Granulobacillus immobilis als exquisiter Buttersäurebacillus. Wie wir schon angedeutet haben, ist die Menge der bei den Gährungen des Granulobacillus entstandenen flüchtigen und nicht flüchtigen Säuren — was ihr Verhältnis zu einander betrifft — ein wechselndes, und unter

Digitized by Google

Umständen wird nur verhältnismässig wenig Buttersäure gebildet. In Milch nun ist die Menge der entstandenen Buttersäure stets eine erhebliche. In drei Fällen trafen wir bei der Untersuchung nur äusserst geringe Mengen von Rechtsmilchsäure an, der ganze vergorene Milchzucker war in Buttersäure (von den Gasen abgesehen) übergeführt worden. Dies waren aber Ausnahmsfälle. Meistens war es so, dass etwa gleichviel Buttersäure und Rechtsmilchsäure oder von letzterer etwas mehr gebildet wurde. Hinsichtlich etwaiger Verschiedenheiten in den Gährproducten der einzelnen Gährungsphasen konnte — wenigstens was die Säuren betrifft — nichts ermittelt werden. Schon nach 36 Stunden waren in einem Falle sowohl Rechtsmilchsäure als Buttersäure in grossen Mengen gebildet und andererseits waren die drei schon erwähnten Proben, die nur Buttersäure enthielten, alte Culturen.

Der Umstand, dass manches Mal in Milch ausschliesslich Buttersäure entsteht, wobei gleichzeitig constatirt wird, dass ein grosser Theil des Milchzuckers vergoren ist, beweist, dass jedenfalls ein Theil der Buttersäure in Milchculturen aus dem Milchzucker entsteht. Es war aber noch weiters die Möglichkeit vorhanden, dass auch aus dem Fett oder dem Eiweiss der Milch Buttersäure gebildet würde. Beides kann füglich ausgeschlossen werden.

Dass der Granulobacillus das Milchfett nicht in ausgedehnterem Maasse spaltet, konnte schon daraus geschlossen werden, dass die bei der Gährung entstehenden flüchtigen Säuren in ihrer Zusammensetzung nicht den flüchtigen Säuren des Milchfettes entsprechen; wir haben es aber weiter noch dadurch erhärtet, dass wir auf ausgeschiedene unlösliche Fettsäuren prüften. Wir extrahirten zu dem Zwecke den Filterrückstand der Milchproben (Caseïn + Fett + eventuell vorhandene unlösliche Fettsäuren) ausgiebig mit Aether und bestimmten die Ranciditätszahl des Aetherrückstandes. Nur sehr geringe Mengen Lauge wurden bei der Titrirung des Fettes verbraucht.

Auch die Bildung von Buttersäure aus dem Milcheiweiss kann so gut wie sicher ausgeschlossen werden, indem in der

Digitized by Google

vergorenen Milch alle Producte, die sonst als Indicatoren für Eiweisszersetzung gelten, fehlen. Negativ fällt die Prüfung in der Molke aus auf Indol, Phenol, Ammonsalze, Schwefelwasserstoff. Noch Eines lässt auf ein geringfügiges Eiweisszersetzungsvermögen schliessen, das Fehlen der Caseïnpeptonisirung.

Man kann schon mit blossem Auge erkennen, — in mehrere Monate alten Culturen genügt dies allein schon — dass das Caseïngerinnsel andauernd unverändert bleibt. Durch Untersuchung des Stickstoffgehaltes der Molke — nach Kjeldahl — kann man sich in exacter Weise hievon überzeugen.

Man erfährt hieraus, dass der Stickstoffgehalt der Molke nach 14 Tagen nur unbedeutend höher ist als derjenige am ersten Tage der Gährung; nennenswerthe Mengen von Caseïn können also unmöglich im Verlaufe der Gährung in Lösung gehen.

Auffallend ist nur, dass der Eiweissgehalt der Molke an sich genommen, ein ziemlich hoher ist. Wir haben durchschnittlich hiefür 0,6 bis 0,8% (für 100 ccm Molke berechnet) gefunden.

Molke aus unvergohrener Milch weist nach den meisten Angaben der Literatur geringere Zahlen auf.

Wir können dem aber im Hinblick auf die Verworrenheit auf dem Gebiete der Milchchemie und die sehr getheilten Ansichten der Autoren, die sich hiemit beschäftigt haben, nicht viel Werth beimessen. Aus dem höheren Stickstoffgehalt der Molke ableiten zu wollen, dass der Granulobacillus das Caseïn angreife, ist gewiss unstatthaft, da ersterer wie erwähnt, sich im Laufe von Wochen nicht ändert. Die höhere Zahl könnte höchstens bedeuten, dass der Granulobacillus nicht das gesammte Caseïn zur Ausfällung bringt; doch erscheint diese Annahme gezwungen, wenn man erfährt, dass der Granulobacillus kein Labferment bildet, sondern durch Säurewirkung das Caseïn abscheidet[1]).

1) Am besten in Einklang zu bringen sind unsere Resultate noch mit der Anschauung von Duclaux; derselbe nimmt an, dass etwa 0,8% des Gesammteiweisses der Milch (auch des Caseïns) in gelöstem, der Rest in gequollenem Zustande sich befinde. Der Granulobacillus würde dann durch seine Säure nur letzteres zur Coagulation bringen.

Digitized by Google

Durchaus nicht der gesammte Zucker der Milch wird vom Granulobacillus immobilis aufgebraucht; gewöhnlich bleibt sogar weit mehr als die Hälfte unzersetzt zurück, und nur etwa 0,5 bis 1,5% werden vergohren. Alkohole werden in Milch vom Granulobacillus immobilis nur in geringen Mengen gebildet.

Die Thatsache, dass unser Bacillus in Milch stets erhebliche Mengen von Buttersäure bildet, muss als charakteristisch für die Milchcultur als solche angesehen werden und kommt vermuthlich nicht dem Milchzucker specifisch zu. In Milchzuckerbouillon oder in mit Pepton und Milchzucker versetzter einfacher Nährlösung werden nämlich nach unseren bisherigen Erfahrungen relativ viel geringere Mengen Buttersäure gebildet. Nachdem auch unter gleichen Bedingungen die Mengen der Säuren wechselnde sind, darf es nicht Wunder nehmen, dass die Zusammensetzung des Nährbodens für die Art der Zersetzung eines und desselben Zuckers entscheidend werden kann.

In Milchzuckerbouillon, — die, sowie fast jede von uns verwendete, aus Liebig'schem Fleischextract bereitet wurde — entstehen nach unseren bisherigen Versuchen ebenso überwiegende Mengen von Rechtsmilchsäure wie in Dextrose-, Rohrzucker-, Maltose- und Stärkebouillon. In einem Versuche mit Galaktosebouillon und in einem solchen mit Lävulosebouillon entstanden etwa gleichviel von beiden Säuren. Bemerkenswerth ist in letzterem Falle, dass aus einem linksdrehenden Zucker die rechtsdrehende Modification der Milchsäure entstand. Alkohole wurden auch in Zuckerbouillon nur in Spuren gebildet. Besonders soll erwähnt werden, dass der Granulobacillus in Zuckerbouillon (jedenfalls aus dem Pepton) nicht unbeträchtliche Mengen von Schwefelwasserstoff bildet.

Die Gährungsgase wurden nur von Milchculturen untersucht; es entstanden ausschliesslich Kohlensäure und Wasserstoff, letzterer in überwiegender Menge; Sumpfgas wurde nicht gebildet. Die Vorrichtung zur Untersuchung der Gase war folgende: Eine dickwandige Flasche wurde zu etwa $^3/_4$ ihres Volumens mit Milch gefüllt und während des letzten Sterilisirens im strömenden Dampfe mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen fest

Digitized by Google

verschlossen. In der einen Bohrung des letzteren stak ein kleiner Tropftrichter, der mit einem gut eingeschliffenen Glashahne versehen war und mit seinem unteren Theile bis tief unter das Niveau der Flüssigkeit reichte. In der anderen Bohrung befand sich ein spitzwinkelig gebogenes Glasrohr, das knapp unter dem Stopfen endigte und mittels einem dickwandigen Schlauche mit einem zweiten Glasrohre verbunden war, das die Verbindung mit einem nicht graduirten Eudiometer herstellte. Letzteres war ein Rohr mit weitem Lumen, das an seinem oberen Ende sich verjüngte und unter Vermittlung eines dickwandigen Schlauches mittels Schraubhahn und Glasstäbchen verschlossen war. Eudiometer und Gasentbindungsrohr waren mit flüssigem Paraffin gefüllt. Der ganze Apparat war zweckmässig auf einer Unterlage durch eine Anzahl von Stativen befestigt.

Die Impfung wurde so vorgenommen, dass in den Trichter einige Cubikcentimeter sterilisirter, frisch ausgekochter Milch gebracht wurden, letztere mit dem Impfmateriale beschickt und dann vorsichtig der Hahn geöffnet wurde. Infolge des theilweisen Vacuums im Innern wurde die geimpfte Milch aspirirt. Der ganze Apparat wurde in den Brutschrank gestellt[1]).

Protokollauszüge und Analysen.

1. Marktmilch (Morgen- und Abendmilch), 3 l; Controle frei von Milchsäure. Mit Granulobacillus Typus B geimpft (erster Stamm). Zur Hälfte in der Botkin-Glocke, zur Hälfte unter Bunsenventil-Verschluss gehalten. Zusatz von Kreide. Nach 12 Tagen 2 l des klaren Filtrats in Arbeit genommen; in gewöhnlicher Weise verarbeitet. Auf der gesättigten Pottaschelösung schwimmen einige gelbliche Oeltröpfchen; positive Jodoformreaction. Menge des Barytsalzes der flüchtigen Säuren = 10,2 g; Menge des milchsaueren Kalks (durch Absättigen der Säure mit Kreide und Fällen mit Alkohol-Aether gewonnen) = 3,8 g.

I. Flüchtige Säuren. Bariumgehalt des Barytsalzes der flüchtigen Säuren = 46,8% (0,3030 g Substanz, 0,2410 g $BaSO_4$). Die höhere Ba-Zahl (Ba-Gehalt des buttersauren Baryts = 44,05%) liess vermuthen, dass auch noch andere flüchtige Säuren als Buttersäure, und zwar solche von niedrigerem Molekulargewicht vom Granulobacillus gebildet werden. Doch war daran zu denken, dass der kohlensaure Baryt durch das einfache Abdampfen nicht völlig

1) Einer ähnlichen Vorrichtung bediente sich Botkin bei seinen Untersuchungen.

Digitized by Google

sicher beseitigt wird, und dann konnten möglicher Weise auch basische Salze entstanden sein (?). Die Analyse der Silbersalze ergab, dass auch geringe Mengen von Säuren mit höherem Molekulargewicht als Buttersäure entstehen.

Das Barytsalz wurde mit Schwefelsäure zersetzt, das Destillat mit Natronlauge bis zur ganz schwach sauren Reaction abgestumpft und mit einer 10 proc. Silbernitratlösung fractionirt gefällt. Die einzelnen Fractionen wurden im Vacuum getrocknet, und in einzelnen derselben der Silbergehalt durch einfaches Veraschen bestimmt. Der Silbergehalt des buttersauren Silbers = 55,38%.

11 Fractionen. I. Fraction: Sehr geringe Mengen; AgCl-haltig, deshalb nicht analysirt. II. Fraction (AgCl-frei) = 0,0285 g. Ag-Gehalt = 54,8% (0,0285 g Substanz, 0,0155 g Ag). III., IV., V. Fraction in Summa 0,6693 g, nicht analysirt. VI. Fraction = 2,713 g. Ag-Gehalt = 55,00% (0,0360 g Substanz, 0,0198 g Ag). VII. Fraction = 1,093 g, nicht analysirt. VIII. Fraction = 0,3020 g, Ag-Gehalt = 56,4% (0,1108 g Substanz, 0,0625 g Ag). IX. Fraction = 0,4615 g, Ag-Gehalt = 56,8% (0,2157 g Substanz, 0,1225 g Ag). X. Fraction verloren. XI. Fraction = 0,0110 g, Ag-Gehalt = 56,9%.

Das Filtrat vom letzten Silbersalze (überschüssige Silberlösung) färbte sich nach wenigen Minuten in der Kälte tief schwarz, was auf Ameisensäure schliessen lässt.

II. Nicht flüchtige Säuren. Das Kalksalz wurde in heissem Wasser gelöst, mit der theoretischen Menge Oxalsäure versetzt; vom Niederschlage wurde abfiltrirt und mit überschüssigem Zinkcarbonat durch längere Zeit gekocht. Das Filtrat krystallisirte nach dem Eindampfen. Nach zweimaligem Umkrystallisiren wurde die Lösung der Krystalle, welche die Gestalt der Krystalle von milchsanerem Zink besitzen, polarisirt. Es ergab sich eine Linksdrehung von $-0{,}250°$. Hieraus konnte geschlossen werden, dass jedenfalls Rechtsmilchsäure gebildet war. Doch konnte nebenbei noch inactive und Linksmilchsäure entstanden sein. Durch die Bestimmung des Krystallwassergehalts konnte die Anwesenheit der inactiven Säure ausgeschlossen werden, indem für das Molekül Säure zwei Moleküle Krystallwasser gefunden wurden. (Inactive Säure enthält im Molekül drei Moleküle Wasser.)

Die Krystalle wurden gut abgepresst, zuerst an der Luft durch 5 Tage und hierauf bei 100° C. bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. (0,1615 g Zinksalz, nach Trocknen bei 100° = 0,1407 g.) Die Bestimmung des Zinkgehalts der Krystalle erfolgte in der Weise, dass bis zu constantem Gewichte getrocknetes Salz verascht wurde; es ergab sich eine dem milchsauren Zink genau entsprechende Menge von ZnO = 33,3% (0,1127 g Substanz, 0,0376 g ZnO). In diesem Versuche wurde somit festgestellt, dass nur active Säuren gebildet waren, doch konnte erst im folgenden ermittelt werden, dass es sich um reine Rechtsmilchsäure handelte. Stickstoffgehalt der Molke und Zuckergehalt derselben wurden nicht bestimmt.

2. Marktmilch (Morgenmilch), $2\frac{1}{2}$ l, frei von Milchsäure. Mit Granulobacillus Typus B (zweiter Stamm) geimpft. Bunsenventilverschluss, Zusatz von Kreide. Nach 14 Tagen 2 l in Arbeit genommen. Keine Alkohole, 6 bis

Digitized by Google

7 g Ba-Salz der flüchtigen Säuren. Gehalt der Molke an Zucker = 4%, Eiweissgehalt der Molke = 0,72%. Das Ca-Salz der nicht flüchtigen Säuren (5,4 g) wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst, mit Aether durch 6 Tage extrahirt; der nach dem Abdunsten des Aethers verbleibende Rückstand wurde in Wasser gelöst und unter Vermeidung eines grösseren Ueberschusses mit Zinkoxyd abgesättigt. Aus dem Filtrat schieden sich nach einiger Zeit Krystalle ab. Krystallwassergehalt derselben = zwei Moleküle (1,1027 g Substanz, Wasserverlust 0,1422 g); Zinkgehalt = 33,3% ZnO (0,2796 g Substanz, ZnO = 0,0932 g).

Polarisation. 0,9214 g krystallisirtes Zinksalz wurden zu 25 ccm in heissem Wasser gelöst und die Lösung erkalten gelassen. Concentration derselben = 3,6856%. Nach Landolt berechnet sich für eine Lösung von milchsaurem Zink (+) von der erwähnten Concentration das specifische Drehungsvermögen $[\alpha]$ am besten zu + 7,85.

Hieraus rechnet sich für die angegebene Concentration und für ein 100 mm-Rohr der im Polarisationsapparate (Lippitsch) abzulesende Winkel α nach der Formel

$$\alpha = \frac{[\alpha] \times l \times c}{100} = \frac{-7,85 \times 1 \times 3,68}{100}$$

mit —0,29 (für rechtsmilchsaures Zn). Das Mittel aus unseren Ablesungen betrug —0,300°; es ergibt sich somit hieraus, dass das analysirte Salz reines rechtsmilchsaures Zink war.

3. 2½ l Morgenmilch. Zusatz von Kreide, mit Granulobacillus Typus B (erster Stamm) geimpft, Bunsenventilverschluss. Nach 14 Tagen 2 l verarbeitet. 5 bis 6 g Barytsalz der flüchtigen Säuren. Gehalt der Molke an Zucker = 4,2%; an Eiweiss = 0,87%.

9 g Ca-Salz der nicht flüchtigen Säuren. Eine Probe hieraus bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, und mit Schwefelsäure abgeraucht. Kalkgehalt (Ca) = 18,2% (18,3% = theoretische Zahl für milchsaueren Kalk; 0,4283 g Substanz, 0,2637 g $CaSO_4$).

4. 2½ l Morgenmilch. Zusatz von Kreide, mit Granulobacillus Typus A (erster Stamm) geimpft. Bunsenventilverschluss. Nach 11 Tagen 2 l in Arbeit genommen. 6 bis 7 g Barytsalz der flüchtigen Säuren. Nicht flüchtige Säuren nach dem Ausäthern direct mit ZnO neutralisirt; grosse Verluste. Starke Linksdrehung der Lösung. Crystallwassergehalt der Crystalle = 2 Moleküle (0,3777 g Substanz; Wasserverlust 0,0492 g), Zinkgehalt 33,33% (0,2479 g Substanz; 0,0826 g ZnO).

5. 2,5 l Morgenmilch wie 4. Typus B. Nach 9 Tagen verarbeitet (2 l). 12 g Barytsalz der flüchtigen Säuren. 5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren. 2,8% Zucker in der Molke, 0,75% Eiweiss.

6. 2,4 l Morgenmilch, wie 5; mit Granulobacillus Typus A (zweiter Stamm) geimpft. Nach 13 Tagen 2 l verarbeitet. 3,5 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren, keine Alkohole. 3,8% Zucker in der Molke, 0,79% Eiweiss.

7. Fleischextractbouillon (1,5 l) mit 30 g Milchzucker (käuflich); mit Paraffin überschichtet. Typus B.

Digitized by Google

Nach 12 Tagen in Arbeit genommen; noch unzersetzter Zucker in Lösung. 2,8 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 4,8 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

8. Wie 7. 1,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 9 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren. Keine Alkohole.

9. Wie 7. 1,9 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 6,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

10. Fleischextractbouillon (1,5 l) mit 20 g Dextrose (crystall. Kahlbaum); mit Paraffin überschichtet. Typus B. Nach 16 Tagen (noch geringe Mengen Zuckers unzersetzt) verarbeitet.

1,4 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine Alkohole, 11,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

11. Einfache Nährlösung (Botkin's Recept) + Pepton (1%) + Dextrose 30 g. Strengste Anaërobiose. Typus B. Nach 14 Tagen nur zum geringsten Theile zersetzt. (Einfache Nährlösung bei strengster Anaërobiose?) 0,4 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine Alkohole. 2 g Ca-Salz der nicht flüchtigen Säuren, mit einem Ca-Gehalt von 17,9% (0,3058 g Substanz; 0,1859 g $CaSO_4$); starke Linksdrehung der Lösung.

12. Einfache Nährlösung wie in 11, mit 30 g Dextrose; Paraffinverschluss. Typus A. Nach 9 Tagen zum grössten Theile zersetzt. 1,7 g Barytsalz der flüchtigen Säuren; 7,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren, mit einem Ca-Gehalte von 18,1% (0,2962 g Substanz, 0,1825 g $CaSO_4$); Linksdrehung der Lösung.

13. Fleischextractbouillon mit 16 g Galaktose (Kahlbaum); Paraffinverschluss. Typus B. Nach 6 Wochen in Arbeit genommen; vollständig vergoren. 5 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren mit einem Ca-Gehalt von 18,09% (0,1570 g Substanz; 0,0965 g $CaSO_4$); Linksdrehung der Lösung.

14. Fleischextractbouillon mit 20 g Rohrzucker (crystallisirt, käuflich). Nach 21 Tagen verarbeitet, vollständig vergoren. Typus B; Paraffinverschluss. 1,8 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 20,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren (Alkohol im Molekül?), keine Alkohole. Ca-Gehalt des Kalksalzes 17,82% (0,3563 g Substanz; 0,2158 g $CaSO_4$).

15. Wie 14. 20 g Lävulose (crystallisirt, Kahlbaum), vollständig vergoren. Typus A. Paraffinverschluss.

5 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 10 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

16. Wie 14. 20 g Maltose (Kahlbaum). Paraffinverschluss. Typus B, vollständig vergoren. Die flüchtigen Säuren gingen zum Theil verloren, gerettet konnten noch werden 3,5 g Barytsalz.

Die nicht flüchtigen Säuren wurden quantitativ gewonnen. 16 g Ca-Salz derselben, zum grössten Theil durch Auscrystallisiren aus der wässerigen Lösung gewonnen; Mutterlauge mit Alkohol-Aether gefällt. Ca-Gehalt des auf letztere Weise gewonnenen Präparats 17,7% (nicht rein? 0,1810 g Substanz; 0,1115 g $CaSO_4$).

Digitized by Google

17. Einfache Nährlösung + Pepton + 30 g Stärke (vor dem Zusatze verkleistert), Typus B, Paraffinverschluss. Nach 12 Tagen verarbeitet, nicht vollständig vergoren. 1,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 6 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren mit einem Ca-Gehalte von 17,7% (0,2247 g Substanz; 0,1355 g $CaSO_4$); Linksdrehung der Lösung. Keine Alkohole.

18. Einfache Nährlösung + Pepton + 30 g löslicher Stärke; strengste Anaërobiose. Typus B. Nur zum geringsten Theile zersetzt. Nach 14 Tagen verarbeitet. 0,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3,1 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren. Keine Alkohole.

19. Wie 17. Paraffinverschluss, Typus A; 0,5 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 4,8 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren, mit einem Ca-Gehalte von 18,5% (0,3920 g Substanz; 0,2455 g $CaSO_4$); Linksdrehung der Lösung. Keine Alkohole.

20. Fleischextractbouillon mit 20 g Glycerin versetzt. Strengste Anaërobiose. Typus B. 1,2 g Barytsalz flüchtiger Säuren. Weiter entstanden Körper aldehydartiger Natur von penetrantem Geruche (Reaction mit Schwefligsäure-Fuchsin, ammoniakalischer Silberlösung). Bei Behandeln mit Chamäleonlösung in der Kälte (Verbrauch von 60 ccm Norm. Chamäleonlösung bis zur Rothfärbung) wurden dieselben weitgehend oxydirt; es entstanden hiebei keine nennenswerthen Mengen von Säuren.

21. Zur Controle für die Fleischextract-Bouillon-Versuche wurden 5 g Fleischextract (für 1 l Bouillon) in Wasser gelöst, die Lösung angesäuert und durch 8 Tage mit Aether extrahirt. Wir erhielten schliesslich 0,45 g Kalksalz der betreffenden Säuren. Die Lösung zeigte Linksdrehung; der Ca-Gehalt betrug 18,5% (0,3018 g Substanz; 0,1900 g $CaSO_4$). Die Säure bestand also, wie zu erwarten war, zum grössten Theile aus Fleisch-(+) Milchsäure.

22. Gasanalyse. Milch in schon beschriebenem Apparate. Typus B. Die Gährung nahm einen so stürmischen Verlauf, dass ein Theil der Milch durch die undichten Stellen in den Verschlüssen herausgeschleudert wurde. Hiebei gingen natürlich auch Gährungsgase verloren. Das Gasentbindungsrohr war während der ersten Stunden nach begonnener Gährung durch ein Caseïngerinnsel verstopft, erst nach einiger Zeit wurde es wegsam. Die analysirten Gase entsprechen daher nicht der allerersten Gährperiode.

Von den Gasen wurden 100 ccm in der Hempel'schen Bürette abgemessen. Die Kohlensäure des Gemisches wurde durch Absorption in der Kalilauge-Pipette, das restirende Gas nach den Regeln der exacten Gasanalyse bestimmt.

CO_2 = 26,2%. 52,26 Volumina (760 Ba, 0°) im Eudiometer über Hg aufgefangen. Durch Erwärmen von $KClO_3$ Sauerstoff eingeleitet: 169,81 Volumina-Gas + O.

Explodirt: 95,36 Volumina. Hinzufügen von Natronlauge, keine weitere Verminderung des Gasvolumens, ergo keine Kohlenwasserstoffe. Einbringen von Pyrogallollösung: Steigen des Hg bis über den graduirten Theil des Eudiometers.

Resultate: H = 69,0%, Luft 4,8%. Die Gährungsgase enthielten demnach CO_2 zu 27,5%, und H zu 72,5%.

Digitized by Google

23. Gasanalyse. Milch, Typus A. Die Luft ist aus dem Apparate nur unvollständig verdrängt, doch geht die Gährung ruhig und gleichmässig vor sich, so dass keine Verluste erlitten werden; es wurden somit in diesem Versuche die anfangs gebildeten Gase untersucht. Methodik wie in 22. Menge der CO_2 in den abgemessenen 100 ccm Gasgemisch = 20%. 43,476 Volumina (760 Ba, 0°) Gasgemisch im Eudiometer. Nach dem Einleiten von O: 89,782 Volumina. Nach der Explosion (schwach hörbare Detonation) 59,202 Volumina.

Nach dem Einführen von Kalilauge keine Volumverminderung, nach dem Einbringen von Pyrogallollösung 18,42 Volumina (Stickstoff; viel Luft!).

Resultate: H = 37,51%, Luft = 42,488%. Die Gährungsgase bestanden demnach zu 34,77% aus CO_2, zu 65,23% aus Wasserstoff.

C. Verbreitung des Granulobacillus immobilis.

Der Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens ist ganz allgemein verbreitet. Wir haben ihn überall angetroffen, in jedem zur Untersuchung gelangten Material.

Ueber sein häufiges, vielleicht regelmässiges Vorkommen in Marktmilch haben wir schon berichtet. Er kommt aber auch im Boden, im Wasser, in den verschiedensten Käsesorten, in Mehlen, im Koth von Menschen (auch Kindern) und Rindern, im Sauerteig etc. häufig vor.

Directe Aufschlüsse über seinen natürlichen Entwickelungsgang konnten wir nicht erlangen; berücksichtigt man aber eine Reihe ihm zukommender biologischer Merkmale und erwägt man, dass er ganz regelmässig im Rinderkoth angetroffen wird, so gelangt man zu einer Vorstellung, die grosse Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Sein Wachsthumsoptimum bei Körpertemperatur, die rasch erfolgende Sporenbildung bei alkalischer Reaction und bei Vorhandensein von geringen Stärkemengen lassen die Möglichkeit zu, dass es der thierische Verdauungstract ist, in dem sich die Versporung des Granulobacillus vollzieht, und dass auf diesem Wege mit dem Koth stets reichlich widerstandsfähiges Material in die Aussenwelt gelangt.

Diese Annahme gewinnt dadurch noch an Wahrscheinlichkeit, dass im Boden selbst und bei den meisten in der Natur sich abspielenden Zersetzungsvorgängen (gährendes, kohlehydratreiches Material mit saueren Producten) keine besonders günstigen

Digitized by Google

Bedingungen für die Versporung geboten werden dürften und wird weiter noch dadurch gestützt, dass normaler Weise in der Natur auch nicht die für die Versporung günstigen Temperaturen vorhanden sind.

Sein häufiges Vorkommen in Käse (in Form von Sporen) lässt deshalb noch nicht den Schluss zu, dass er bei der Käsereifung eine besondere Rolle spielt. Ja, wir möchten eine solche ihm sogar absprechen; da er das Caseïn nicht angreift und bei niederer Temperatur nur kümmerlich wächst, überdies auch neben den aëroben Milchsäure- und peptonisirenden, vielleicht auch fettspaltenden Bacterien kaum reichlicher zur Entwickelung kommen wird, scheint es uns gezwungen, ihn zum Käsereifungsprocesse in Beziehungen zu bringen. Wir glauben, dass er im Käse im versporten Zustand ein latentes Leben führt und vielleicht nur ausnahmsweise zu einer mehr oder minder reichlichen Entwicklung kommt. Uebrigens wäre es für den Fachmann immerhin interessant, auch von dieser Seite den Käsereifungsprocess zu studiren, besonders, da sich bei Anwendung der anaëroben Technik, die bei der Bearbeitung der Käsereifung bisher sehr stiefmütterlich behandelt worden war, noch manches Wissenswerthe ergeben könnte.

Sein häufiges Vorkommen in Wasser, Mehlen etc. wird wohl darauf zurückzuführen sein, dass er vom Boden aus, wo er ja gleichfalls sehr häufig angetroffen wird, durch Verstäubung u. a. sich überallhin verbreitet.

Der Nachweis des Granulobacillus in den einzelnen Materialien wurde genau so wie in Milch geführt. Die isolirten Stämme wurden durch das Aussehen der Oberflächencolonien auf Agar, durch die Unbeweglichkeit und die Morphologie der Individuen und durch die bei der Gährung entstandenen Producte (flüchtige und nicht flüchtige Säuren, Alkohole) identificirt.

Wir wollen im Nachfolgenden zusammenfassend eine Reihe von Protokollauszügen mittheilen.

24. Zwei Milchproben aus Wien von nicht näher bezeichneter Herkunft; 20 Min. im Dampftopfe sterilisirt. Bacterien vom Typus B anscheinend in Reincultur in beiden Proben vorhanden; Stämme isolirt.

Digitized by Google

25. Milch aus Mähren stammend, von einem Wiener Milchgeschäfte; 15 Min. im Dampftopfe sterilisirt. Auf den anaëroben Platten neben facultativ anaëroben Bacterien grösstentheils Granulobacillus Typus B. Der hieraus isolirte Stamm war derjenige, den wir später fast ausschliesslich zur Aussaat brachten.

26. Milch aus Ungarn stammend, gleichfalls von einem Milchgeschäfte in Wien bezogen; partiell sterilisirt. Ausschliesslich Typus B.

27. Milch aus Breslau, in Originalflasche, 15 Min. lang im Dampftopfe erhitzt. Nach 24 Stunden stürmische Gährung; von der Milch anaërobe Platten gegossen. Auf letzteren fast ausschliesslich nicht specifische, facultativ anaërobe Bacterien mit einem stark verästelten Colonientypus gewachsen. Erst nach 48 Stunden waren die anaëroben Gährungserreger in der Milch in so grosser Menge vorhanden, dass sie auch auf den Platten überwogen und isolirt werden konnten. Hieraus Typus A, der später stets untersuchte Stamm, gezüchtet.

28. Milch aus Mähren (in Originalflasche eingeschickt und darin auch 20 Min. lang sterilisirt). Typus A in Reincultur.

29. Milch aus Prag (Originalflasche), 10 Min. im Dampftopfe erhitzt. Typus A.

30. Milch aus Salzburg (Originalflasche), 5 Min lang sterilisirt. Typus B.

31. Milch aus Innsbruck (Originalflasche), 5 Min. lang erhitzt. Reincultur von Bacterien mit Typus B.

32. bis 38. Milch von sieben verschiedenen Wiener Milchhändlern an Ort und Stelle in sterilisirte Flaschen mit Patentverschluss gefüllt. Alle 30 Min. im strömenden Dampfe sterilisirt. Nach 24 Stunden überall stürmische Gährung, überall mikroskopisch unbewegliche Bacillen. In fünf Proben Typus B, in zwei Proben Typus A, anscheinend überall in Reincultur.

39. Milch der Gutsverwaltung Hunyady, eine Stunde sterilisirt. Nur unbewegliche Buttersäurebacillen (Typus?).

40. und 41. Zwei Milchproben von nicht näher bezeichneter Provenienz, 30 Min. im strömenden Dampfe erhitzt. (Typus A)

42. bis 44. Drei Milchproben, eine Stunde erhitzt. Granulobacillus in Reincultur. (Typus?)

45. bis 48. Vier Milchproben, $1^1/_2$ Stunden im Dampftopfe erhitzt. Nach 36 Stunden stürmische Gährung in zwei Proben, in der dritten Probe atypische Gährung. Ueberall unbewegliche Bacillen, Typus B.

49. und 50. Zwei Milchproben, welche nach 20 Min. langem Sterilisiren im strömenden Dampfe geronnen waren (Milchsäurebildung?). In den Brutschrank gestellt, zeigten sie nach 24 Stunden lebhafte Buttersäuregährung, ohne charakteristische Caseïnabscheidung. Colonien vom Typus B in der einen Probe, in der zweiten Probe Typus zweifelhaft.

51. bis 54. Vier verschiedene Brunnenwässer[1]) zu je 10 ccm in gründlich sterilisirte (geprüfte) Milch gefüllt und 10 Min. lang sterilisirt. In allen Proben Typus B fast in Reincultur.

1) Aus Hochquellwasser konnten einmal bewegliche Buttersäurebacillen angereichert werden.

Digitized by Google

a) 7,5 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren, keine Alkohole.
b) 8,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 1,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.
c) Chemisch nicht untersucht.
d) 8 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine nicht flüchtigen Säuren gebildet.[1])

55. bis 58. Vier Bodenproben (zwei Proben Gartenerde, eine Bauerde, eine Ackererde); kleine Quantitäten in sterile Milch eingebracht, 20 Min. lang sterilisirt.

a) Gartenerde, Typus A.
b) Gartenerde, Typus B; 6,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3,1 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.
c) Bauerde, Typus B; flüchtige Säuren (reichlich) verloren, 2,4 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.
d) Ackererde, Typus B; 5,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

59. Schweizerkäse. Ein linsengrosses Stück in sterile Milch gebracht, letztere 15 Min. lang sterilisirt. Nach 24 Stunden lebhafte Gährung, mikroskopisch neben beweglichen auch unbewegliche Bacillen. Auf Zuckeragarplatten neben Colonien von facultativ anaëroben, sehr schlanken, beweglichen Stäbchen solche vom Typus A. (Auch Colonien von beweglichen Buttersäurebacillen).

60. Schmierkäse. Auf den Platten neben Colonien von beweglichen Buttersäurebacillen zahlreiche Colonien vom Typus A. 3,3 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 5,4 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

61 Quargel. Auf den Platten in grosser Mehrzahl Colonien vom Typus A. 21 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine nicht flüchtigen Säuren gebildet.

62. Roggen- und Gerstenmehl gemischt. Kleine Mengen in sterile Milch gebracht, 20 Min. sterilisirt. Nur unbewegliche Bacillen, Typus B.

1. 12,8 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine nicht flüchtigen Säuren gebildet.

   Bei diesem Stamme zeigten sich besonders deutlich die Schwankungen im Gährungsvorgange hinsichtlich der nicht flüchtigen Säuren, indem in zwei später angesetzten Milch-Reinculturen desselben jedesmal grosse Mengen von Rechtsmilchsäure gebildet wurden.
2. 8,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3,2 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.
3. 6,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3,0 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

---

1) Alle hier und in den weiteren Protokollen angegebenen Zahlen beziehen sich auf Milch-Reinculturen der betreffenden Stämme.

Digitized by Google

63. Weizenmehl I. Typus A. 7 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 2,5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

64. Weizenmehl II. Colonien vom Typus B.

65 bis 70. Kuhkoth. Unter völlig aseptischen Cautelen in steriler Milch gesammelt; 30 Min. sterilisirt. In allen Proben stürmische Gährung; Granulobacillus immobilis anscheinend überall in Reincultur, meist Typus B.

71 und 72. Koth von zwei künstlich genährten Säuglingen, in steriler Milch 10 Min. erhitzt. Colonien vom Typus B; ein Stamm in Milch-Reincultur untersucht; 3,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

73. Dünnflüssige Fäces eines Erwachsenen; durch Anreicherung in Milch. Colonien vom Typus B.

74. Stuhl eines Erwachsenen (tuberculöse Enteritis). Typus B. 5,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 5 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

75. Sauerteig. Ein erbsengrosses Stück in steriler Milch 12 Min. lang erhitzt. Typus B. 2,5 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 3 g Kalkzalz der nicht flüchtigen Säuren.

76. Gartenerde. Ohne Anreicherung direct mittels Zuckeragarplatten isolirt. Typus B. 7 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 1 g Kalksalz der nicht flüchtigen Säuren.

Zu den Protokollauszügen soll noch bemerkt werden, dass nur jene Versuche angeführt wurden, welche ein positives Resultat ergaben, und welche weiter bis zur völligen Sicherstellung der Art durchgeführt wurden. Wir verfügen übrigens noch über eine Reihe von hier nicht erwähnten, exacten Versuchen, die jedoch aus Raumersparnis weggelassen wurden.

D. Giftigkeit und Pathogenität.

Der Granulobacillus immobilis ist für die Versuchsthiere nicht infectiös und bildet in seinen Culturen auch keine für dieselben giftigen Producte. Wir haben bis zu 10 ccm junger Bouillonculturen Meerschweinchen intraperitoneal injicirt, ohne dass die geringsten Störungen in ihrem Wohlbefinden zu bemerken gewesen wären.

Digitized by Google

Kritik der Botkin'schen Untersuchungen.

Wir haben schon im Vorhergehenden erwähnt, dass wir nicht in der Lage waren, die Botkin'schen Versuchsergebnisse zu bestätigen. Unsere ausgedehnten Erfahrungen, die wir auf Grund einer zuverlässigen Methodik gesammelt haben, berechtigen uns aber, noch einen Schritt weiter zu gehen und die Existenz des Bacillus butyricus mit allen seinen ihm von Botkin beigelegten Eigenschaften zu bezweifeln.

Nicht etwa bloss wegen unserer negativen Befunde, sondern hauptsächlich deshalb, weil aus der von Botkin gegebenen Beschreibung geschlossen werden kann, dass es sich kaum um die Reincultur eines selbstständigen Buttersäurebacillus handeln könne, werden wir zu dieser Vermuthung geführt. Wenn wir die wichtigsten Belege hiefür schon an dieser Stelle bringen wollen, so greifen wir zwar etwas vor, glauben aber hiezu verpflichtet zu sein.

Nachdem der Bacillus butyricus beweglich ist, Butylalkohol bildet, Milchsäure nicht vergährt und zur Zeit der Versporung Granulose ablagert, müsste er zweifellos jener Gruppe von Buttersäurebacillen angehören, welche der Gegenstand unserer nächsten ausführlichen Abhandlung sein wird, und die eine ganze Anzahl von den verschiedensten Autoren (Beijerink, Gruber, Klecki etc.) beschriebener Buttersäurebacillen umfasst. Es ist nun ganz undenkbar, dass er durch eine Reihe wichtiger Merkmale wieder hievon sich unterscheiden sollte. Während alle anderen beweglichen Buttersäurebacillen, die dieser Gruppe angehören, die Gelatine nicht verflüssigen, käme dem Botkin'schen Bacillus butyricus das Vermögen zu, dieselbe zu peptonisiren; während kein anderer beweglicher Buttersäurebacillus in Milch das gefällte Casein zu lösen vermag, wäre der Botkin'sche Bacillus dies im Stande. Wer, wie wir, infolge zahlreicher Untersuchungen einen richtigen Überblick über die Buttersäuregährung gewonnen hat, muss aber weiter auch die

Digitized by Google

Möglichkeit, dass der Botkin'sche Bacillus etwa eine Gruppe für sich bildet, völlig bestimmt in Abrede stellen.

Die abweichenden Eigenschaften des Bacillus butyricus Botkin, die es anscheinend nicht zulassen, dass er in die grosse Gruppe der beweglichen Buttersäurebacillen eingereiht würde, finden ihre richtige Erklärung darin, dass Botkin zweifellos nicht mit Reinculturen gearbeitet hat. Hiefür bietet seine Beschreibung selbst wichtige Anhaltspunkte. Stichculturen in Zuckeragar und Colonien in Agar, wie sie dem Bacillus butyricus zukommen sollen, sind bei beweglichen Buttersäurebacillen so gut wie ausgeschlossen. Alle beweglichen Buttersäurebacillen bilden überhaupt keine distincten oberflächlichen Colonien, sondern infolge ihrer lebhaften Beweglichkeit schwärmen die Individuen in kürzester Zeit über die ganze Agaroberfläche, begünstigt durch die infolge der Gasentwickelung bewirkte Lockerung des Nährbodens; die tiefen Colonien der beweglichen Buttersäurebacillen haben aber ein ganz anderes Aussehen als der Abbildung von Botkin entspricht. Solche Bilder zeigen hingegen häufig facultativ anaërobe Bacterien, wie sie in der Milch stets vorkommen, denen auch die Fähigkeit zukommt, Gelatine und Caseïn zu peptonisiren.

Besonders bekräftigt wird diese Auffassung, dass Botkin's Bacillus mit peptonisirenden Milchbacterien verunreinigt war, durch die Beschreibung, die Botkin von der Agarstichcultur desselben gibt. Hienach sollen in den hohen Schichten des Zuckeragars strahlenförmig begrenzte Colonien sich bilden. Dies trifft nun niemals für alle andern beweglichen Buttersäurebacillen zu.

Die Stichcultur der letzteren sieht ganz anders aus; die Cultur bildet von Anbeginn der Entwicklung in Agar einen diffusen, schmalen Streifen, der einige Millimeter unter der Oberfläche beginnt. Niemals sieht man in den hohen Schichten — aus demselben Grunde, weshalb es nicht zur Entwickelung abgegrenzter Oberflächencolonien kommt — getrennte Colonien. Letztere kommen nur zur Beobachtung, wenn die Cultur mit facultativ anaëroben Bacterien in mässig hohem

Digitized by Google

Grade — so dass eine Entwicklung derselben auf der Agaroberfläche zunächst ausbleiben kann — verunreinigt ist. Dieses Bild kann auch jederzeit künstlich durch Mischculturen hervorgerufen werden.

Abgesehen davon, dass also der Bacillus butyricus vielleicht nichts anderes ist als ein mit aëroben Milchbacterien verunreinigter beweglicher Buttersäurebacillus (wir verweisen auf unsere nächste ausführliche Abhandlung), liegt dann auch noch die Möglichkeit vor, dass Botkin zeitweilig einen Buttersäurebacillus in Händen gehabt hat, der der von uns neu aufgefundenen Art entsprach. Wir nehmen dies hauptsächlich mit Rücksicht auf die ungeheuere Verbreitung derselben an. Für diesen Fall brauchte man nicht an eine unter allen Umständen erfolgte Verunreinigung durch peptonisirende Bacterien zu denken, indem unsere Art die Gelatine verflüssigt.

Dass ihre Reincultur freilich es nicht in allen Fällen sein konnte, die Botkin beschrieb, geht ausser der Verschiedenheit der Gährproducte und dem Umstande, dass sie unbeweglich ist, auch schon daraus hervor, dass durch sie das Caseïn gleichfalls nicht peptonisirt wird. Allerdings, wenn man Botkin's Beschreibung genau liest, muss es fraglich erscheinen, ob er wirklich Peptonisirung des Caseïns gesehen hat. Wenn Botkin sagt, dass nach etwa 8 Tagen das Caseïn zum grössten Theile gelöst sei und an der Oberfläche ein »schwammiger Fettklumpen« schwimme, so wird die Peptonisirung mindestens zweifelhaft erscheinen müssen, indem man nicht recht weiss, wieso das bei Bruttemperatur selbstverständlich flüssige Milchfett ein solches Aussehen gewinnen kann.

Unsere Ansicht geht demnach dahin, dass dasjenige, was in Botkin's Versuchen Buttersäuregährung hervorgerufen hat, sich nicht mit demjenigen deckt, was er beschrieben; dass Botkin zeitweise eine von anderer Seite längst beschriebene Art, zeitweise eine auch ihm unbekannte von uns aufgefundene, beide zeitweilig durch facultativ anaërobe Milchbacterien verunreinigt, in Händen gehabt hat.

Digitized by Google

Nur um die Kritik der Botkin'schen Arbeit zu vervollständigen und auch, um vor ähnlichen Versuchsfehlern zu warnen, heben wir noch hervor, dass Botkin nicht berechtigt war, die geringe Menge Milchsäure, die er in Milchzuckerbouillonculturen erhielt, als Gährproduct des Bacillus butyricus aufzufassen, indem aus dem Fleische stets bei der Bereitung der Nährbouillon Milchsäure in Lösung geht, deren Menge die von Botkin gefundene öfters sogar noch übersteigt.

An diese Abhandlung wird sich als nächste die Beschreibung des beweglichen Buttersäurebacillus der Kohlehydrate (Granulobacillus saccharobutyricus mobilis von liquefaciens), sobald es die äusseren Umstände gestatten werden, anreihen.

Digitized by Google

Erklärung der Figuren auf Tafel I.

Fig. I. 48stündig. Zuckeragar. Bacillen von einer Colonie vom Typus A.

Fig. II. 48stündig. Zuckeragar. Bacillen von einer Colonie vom Typus B.

Fig. III. 48stündig. 1‰ Stärkeagar, Präparat mit verdünnter wässeriger Fuchsinlösung gefärbt, in Luft eingeschlossen. Freie Sporen, sporenhaltige Bacillen. Die Stäbchen fast alle granulirt.

(Fig. I, II, III = Vergrösserung 1000fach.)

Fig. IV. 2 Tage alte oberflächliche Colonie auf Zuckeragar. Colonie vom Typus A.

Fig. V. 2 Tage alte oberflächliche Colonie auf Zuckeragar. Colonie vom Typus B.

(Fig. IV und V = Vergrösserung 25fach.)

Digitized by Google

Fig. I.

Fig. II.

Fig. III.

Fig. IV.

Fig. V.

Druck von R. Oldenbourg in München.

Digitized by Google

Experimentelle Beiträge zur Aetiologie und pathologischen Anatomie der Pest. I.

Von

A. Sata

Professor aus Osaka, Japan.

Ersatz-Tafel für die dem ersten Heft des 37. Bandes der Zeitschrift „Archiv für Hygiene" beigegebene Tafel I.

bacteriologischen Eigenschaften des Pesterregers nachzuprüfen, sowie die selbstgewonnenen Resultate und Ansichten festzustellen.

Verschiedene Pestforscher, nämlich Kitasato und Yersin, bezeichneten einen bestimmten Spaltpilz als Ursache dieser Krankheit, jedoch weichen ihre Anschauungen über das Wesen des Erregers sehr von einander ab.

Nicht minder war es für mich auch von Interesse, experimentell die bis jetzt noch nicht genügend studirten pathologisch-histologischen Vorgänge aufzuklären.

Leider konnte ich diese Untersuchungen seiner Zeit nicht in der von vornherein beabsichtigten Weise zu Ende führen.

Die bekannten unglücklichen Vorgänge in Wien fügten meiner Arbeit eine unliebsame Unterbrechung zu, als kaum die

Digitized by Google

erste Reihe meiner umfassend geplanten Untersuchungen beendet war. Trotzdem möchte ich diese, von mir erzielten Resultate der Oeffentlichkeit übergeben, da die bisherigen Kenntnisse über Pest sowohl ätiologisch als auch pathologisch-anatomisch noch nicht so abgeschlossen sind, dass weitere Untersuchungen unnöthig wären.

Selbst die Anschauungen über das Krankheitswesen der Pest gehen bei den verschiedenen Forschern sehr weit, zwischen der Lokalerkrankung (Yamagiwa) und der allgemeinen Septicämie (Babes, Albrecht und Ghon), auseinander.

Zu meinen Versuchen verwendete ich vier verschiedene Pestculturen, welche von verschiedenen Bacteriologen isolirt worden waren.

Cultur Nr. I von Yersin habe ich von Herrn Král in Prag in Sendung erhalten. Nach seiner Mittheilung hatte er diese Cultur vor ungefähr einem halben Jahre von Pasteur's Institut kommen lassen und damals ihre Virulenz nachgewiesen; sie war aber während der Zeit meiner Untersuchung schon nicht mehr pathogen.

Die übrigen drei Pestculturen wurden von verschiedenen Instituten durch Herrn Professor Schottelius bezogen und während mehrerer Monate von Herrn Assistenten Dr. Korn fortgezüchtet.

Die eine, Cultur Nr. II, stammt von Kitasato, die andere, Cultur Nr. III, von Gaffky, und die letzte, Cultur Nr. IV, von Klein in London. Die Culturen Nr. II und Nr. III wiesen bis zu einigen Wochen vor Beginn meiner Untersuchungen eine starke Virulenz an Thieren, besonders an Ratten, auf; verloren dann aber rasch ihre Virulenz. Die Cultur IV dagegen blieb während meiner Arbeitszeit constant pathogen, weshalb ich letztere zu meinen Thierversuchen verwendete.

Meine Gesammtuntersuchungen zerfallen in zwei Haupttheile; jedem derselben ist ein kritischer Literatur-Ueberblick vorangestellt.

Digitized by Google

I. Aetiologisches.

Bekanntlich wurde anlässlich der Hong-kong-Epidemie fast gleichzeitig von den beiden Bacteriologen Kitasato[1]) und Yersin[2]) der Krankheitserreger der Pest entdeckt, aber dessen Eigenschaften von beiden Forschern etwas verschieden charakterisirt.

Nach Kitasato[1]) zeigt der Mikroorganismus der Pest langsame Eigenbewegung und entfärbt sich bei der Behandlung nach Gram, während sich Yersin hinsichtlich dieses Erregers in umgekehrter Weise äussert. Die anderen, von Seiten Kitasato's besprochenen Eigenschaften spielen, wie mir scheint, beim Vergleich der Unterschiede der beiden Mikroorganismen keine wesentliche Rolle.

In seiner ersten Mittheilung äussert sich Kitasato über das Verhalten seines Bacillus gegenüber der Gram'schen Färbung nicht eingehend, sondern gibt nur an, dass sein Bacillus sich durch dieselbe »theilweise« entfärbe.

Erst in der zweiten Mittheilung wurde Genaueres über dieses Verhalten veröffentlicht.

Aoyama[3]) fand in seinen histologischen Präparaten, dass die Bacillen in Lymphdrüsen sich nach Gram entfärben, während diejenigen im Blute diese Färbung beibehalten. Er glaubte mit Bestimmtheit sagen zu dürfen, dass in den Drüsen der primären Lokalisation ausser den Pestbacillen wenigstens zwei andere, ganz verschiedene Organismen (Mikrococcen und Streptococcen) vorkommen, welche nach seinem Dafürhalten bei der Eiterung von Wichtigkeit sind.

1) Kitasato, J., Preliminary note of the bacillus of bubonic plaque, Hong-kong 1894. I. Mittheilung über den Pestbacillus. Japanische amtliche Berichte vom 31. VII. und vom 1. VIII. 1894. II. Mittheilung über die Pestbacillen. Zeitschr. der medic. Gesellschaft zu Tokio, Bd. XI, Heft 1, 1897.

2) Yersin, Sur la peste bubonique. Annales de l'Institut Pasteur, 1894 und 1897.

3) Aoyama, Ueber die Pestepidemie in Hong-kong im Jahre 1894. Mittheilung aus der med. Facult. d. Kaiserl. Jap. Univers., Bd. III, H. 2.

Digitized by Google

Nach Aoyama machte in Japan zuerst Miyairi[1]) auf den Unterschied zwischen den Pestbacillen von verschiedenen Forschern aufmerksam; dann wies Okada[2]) auf die grosse Bedeutung dieser Frage mit seinen Untersuchungen einer Pestcultur hin, welche er durch einen japanischen Militärarzt von der Epidemie von Formosa erhalten hat. Schliesslich stellte Ogata[3]) durch umfangreiche Studien auf einer Forschungsreise in Formosa die Eigenschaften des Pesterregers im Yersin'schen Sinne fest. Sein Mitreisender, Yamagiwa[4]), der die Pest pathologisch-anatomisch und klinisch bearbeitete, fand ebenfalls als Krankheitserreger an der Hand seiner histologischen Präparate sog. bläschenförmige Bacillen, die sich nach Gram entfärben.

Die zuletzt erwähnten drei japanischen Autoren deuteten also den Pesterreger mehr im Yersin'schen Sinne.

Von anderer Seite haben wir über die Eigenschaften des Pesterregers kein ganz übereinstimmendes Urtheil erfahren, was ich in aller Kürze hervorheben will. Hieher gehören vor allem die Untersuchungen von Zettonow[5]), Kolle[6]) und Abel.[7])

Was die Beweglichkeit des Mikroorganismus anbetrifft, wiesen diese drei Bacteriologen überhaupt keine Bewegung nach.

Die Cultur von Zettnow stammt vielleicht aus derjenigen von Yersin, weil er dieselbe durch Metschnikoff aus Pasteur's Institut erhalten hat.

---

1) Miyairi, K., Ueber die Pestbacillen. Tokyo, medic. Wochenschr., Nr. 949, 1896.

2) Okada, K., Untersuchung des Pesterregers. Tokyo, medicinische Wochenschr., Nr. 977, 1896.

3) Ogata, M., Berichte der Untersuchungen über die Pest. Zeitschrift der medicin. Gesellschaft zu Tokyo, Bd. IX, Heft 8—9, 1897. Pestepidemie auf der Insel Formosa im December 1896. Centralblatt. f. Bact. u. Parasitenk., Nr. 20—21, 1897.

4) Yamagiwa, K., Ueber die Bubonenpest. Virchow's Archiv, Bd. CXLIX, Supplementheft, 1897.

5) Zettnow, Beiträge zur Kenntnis des Bacillus der Bubonenpest. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 21, S. 165, 1896.

6) Kolle, Bacteriologie der Beulenpest. Deutsche med. Wochenschr., Nr. 10, S. 146, 1897.

7) Abel, Zur Kenntnis des Pestbacillus. Centralblatt f. Bacteriol. u. Parasitenk., Nr. 13—14, 1897.

Digitized by Google

Kolle schreibt: »Cultur ist eine Pestcultur, welche aus der Pestepidemie von Hong-kong des Jahres 1894 stammt. Sie ist seitdem auf künstlichen Nährmedien, ohne Thierpassagen fortgepflanzt. Cultur II verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Metschnikoff in Paris. Ueber ihre Herkunft weiss ich nichts. Cultur III wurde aus einem in London vorgekommenen Pestfalle im Januar d. J. isolirt und mir gütigst von Herrn Dr. Mc. Fodyean vom British Institut of preventive medicine überlassen.«

»Cultur IV hat Professor Haffkine in Bombay gezüchtet und mir zugesandt.«

Abel schreibt über die Abstammung seines Materials: »Als Ausgangsmaterial für die Untersuchungen dienten zwei, aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin von Herrn Dr. Kolle freundlichst überlassene Culturen von Pestbacillen. Die eine Cultur gehört einem Bacillenstamme an, der 1894 in der Hongkong-Epidemie von Kitasato isolirt und in den letzten Jahren im Institut für Infectionskrankheiten fortgezüchtet worden ist. Die andere Cultur entstammt einem in London während des Monats October 1896 vorgekommenen Pestfalle.«

»Bei Anwendung der Gram'schen Methode halten die Bacillen die Färbung nicht fest, sondern tingiren sich in der Contrastfarbe« (S. 50).

Bei der Behandlung nach Gram fand Kolle auch den Organismus entfärbt, während Zettnow schreibt:

»Das Präparat ist nach Gram gefärbt, jedoch nicht mit absolutem Alkohol entfärbt, sondern sehr vorsichtig mit solchem von 50%« (S. 168).

Er fand bei der Geisselfärbung nach Löffler statt der Geissel eine dicke Hülle, die er als Plasma ansah, während die beiden Entdecker davon sprechen, dass die Bacillen mitunter Kapseln zeigen.

Zettnow suchte die Kapseln vergeblich in den Ausstrichpräparaten von menschlichem Gewebssaft, welche Kitasato angefertigt hat. Abel fand überhaupt keine Kapseln.

Digitized by Google

Gabritschewski[1]) konnte Zettnow's Angabe in Betreff des Fehlens der Kapseln nicht bestätigen, sondern fand mittels der Doppelfärbung — Vorfärben mit Carbolfuchsin und Nachfärben mit Löfflerblau — rothe Bacillen und blaue Kapseln. Ausserdem sah er sehr oft lange cylindrische Körper mit 1 bis 2 Bacillen oder ohne denselben. Diese Körper zeigten mikroskopisch die dem Mucin entsprechende Reaction. Er nahm an, dass bei dem Wachsthum des Pestbacillus sich eine Schleimsubstanz bildet.

Albrecht und Ghon[2]) wiesen nach, dass sich der Pestbacillus in Schnitten nach der Weigert'schen Modification der Gram'schen Methode prompt entfärbt. Denselben gelang der Nachweis von Kapseln in den Blutpräparaten mit Löffler's Methylenblau nicht.

Milch coagulirt nach Kitasato in 24 Stunden nach der Uebertragung des Pestbacillus, während Ogata in der Milch nach einigen Tagen nur eine Vermehrung des Mikroorganismus ohne Gerinnung beobachtete. Kolle konnte keine Entwickelung des Bacillus in der Milch beobachten, während Wilm[3]) eine Gerinnung zu Stande kommen sah.

Abel scheint eine geringe Vermehrung in der Milch beobachtet zu haben, ohne dass die Gerinnung derselben eingetreten wäre.

Auf Kartoffeln zeigt der Bacillus nach Kitasato keine sichtbare Entwickelung bei Zimmertemperatur, aber graue, nicht trockene Flecke bei Brütwärme.

Nach Ogata entwickelt sich der Bacillus auf Kartoffeln als eine weisse, etwas hervorragende Colonie. Kolle erwähnt, dass

1) Gabritschewsky, Bacteriologie der Bubonenpest. Russ. Archiv für klin. Medic. und Bacteriol., 1897. Referat: Centralblatt für Bacteriol. u. Parasitenk., 1898.

2) Albrecht und Ghon, Ueber die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897. II. Wissenschaftl. Theil des Berichtes, 1898.

3) Wilm, Ueber die Pestepidemie in Hong-kong im Jahre 1896. Hygien. Rundschau, Nr. 5—6, 1897.

Digitized by Google

der Bacillus auf Kartoffeln ebenso wie auf Blutserum sich entwickelt; Abel sah den Bacillus bei 37° auf Kartoffeln einen geringen weissgrauen Rasen entwickeln.

Auf Blutserum gedeiht der Bacillus nach Kitasato fast ebenso gut wie auf Agar-Agar, nach Ogata dagegen etwas schwächer als auf Agar-Agar. Nach Kolle ist diese Entwickelung nicht üppig.

Abel gibt an: »Löffler'sches Blutserum, ebenso schräg erstarrte Ascitesflüssigkeit geben einen guten Nährboden ab; doch war das Wachsthum auf Serum, trotzdem Kitasato es für das üppigste erklärt, nicht besser als auf Agar« (S. 502).

Er gibt ausserdem an, dass Glycerinagar als Substrat nicht mehr als Peptonagar leistete.

Nach Kolle findet man ein starkes Wachsthum der Bacillen, wenn man den Nährmedien Zuckerarten zusetzt, während Abel einen anderen Wachsthumszustand bemerkte.

Was das Resultat des Thierversuches anbetrifft, so gehen die Meinungen wieder auseinander; darüber im nächsten Kapitel.

Somit geht aus obiger Zusammenstellung hervor, dass ein übereinstimmendes Urtheil über den Charakter des Pestbacillus bisher nicht besteht.

Aus diesem Grunde habe ich die Pestbacillen von den oben erwähnten vier verschiedenen Abstammungen auf verschiedenen Nährmedien cultivirt und alle in verschiedenen Zeiträumen bei genauer Vergleichung beobachtet; die hierüber angestellten Untersuchungen sind in Folgendem aufgeführt.

Das Verhalten der Pestbacillen auf verschiedenen Nährmedien.

Am 6. August 1898, Vormittags, wurden mit Ausnahme der erst am 8. August angelegten Platten von Gelatine und Agar-Agar, alle vier Culturen nach bestimmter Untersuchung der einzelnen Culturen auf folgende Nährböden übertragen und in der bestimmten Zeit genauer Beobachtung unterzogen.

Digitized by Google

Auf Glycerin-Agar.

	Cultur I	Cultur II	Cultur III	Cultur IV
8. VIII.	Etwas breites, weissgraues dickes Strichband mit ausgebuchteten Rändern. Die Culturmasse klebend und fadenziehend.	Schmales, stellenweise unterbrochenes, graues u. dünnes Strichband mit fein gelappten Rändern. Die Culturmasse klebend und fadenziehend.	Schmales, graues, aus vereinzelten dicht zusammenliegenden Colonien bestehendes Strichband mit fein gelappten Rändern; die Culturmasse nicht kleb. u. fadenziehend.	Ziemlich breites, weisslich graues, dickes Strichband mit theils glatten, theils gelappten Rändern; die Culturmasse sehr klebend u. fadenziehend.
9. VIII.	Keine besond. Veränderung; Strichband etwas breiter und dicker als das letzte Mal.	Fast keine Veränderung; nur etwas dicker und breiter als gestern; aber im ganzen noch sehr zart.	Kein wesentlicher Wachsthumsfortschritt.	Keine Veränderung.
10. VIII.	Strichband etwas breiter als gestern; Ränder grob stumpf lappig.	Strichband dünn, zart, grau u. durchschein.; an d. Rändern befind. sich vereinzelte Colonien, welche später confluiren.	Belag etwas verdickt, aus confluirten Colonien bestehend; Ränder unregelmässig lappig.	Strichband wenig verbreitert, die Ränder theils grob, theils fein, aber überall sich stumpf ausbuchtend.
11. VIII.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung; etwas dicker als Cultur II.	Keine Veränderung.
12. VIII.	Strichband dicker u. breiter.	Keine Veränderung d. Strichbandes, an dessen Rändern sind zahlreiche vereinzelte Colonien entwickelt.	Keine Veränderung, nur etwas verbreitert.	Keine Veränderung.
13. VIII.		Keine Veränderung; Strichband zart und dünn.	Keine Veränderung; Ränder unregelmässig grob lappig.	Keine Veränd.; die Ränder mehr glatt und leicht lappig.
22. VIII.	Strichband grauweiss, glänzend, feucht, dick und breit Ränder grob lappig.	Schmales, grau durchsichtiges, ganz dünnes Strichband mit grob gelappten Rändern, an welchen zahlreiche vereinzelte Colon. entwickelt sind.	Schmales, grau durchscheinendes Strichband (etwas dicker als Cultur II) mit fein gelappten Rändern.	Breiteres und dickeres, grau durchscheinendes Strichband mit wenig ausgebuchteten Läppchen.

Auf Agar-Agar.

	Cultur I	Cultur II	Cultur III	Cultur IV
8. VIII.	Strichband sieht ähnlich aus wie auf Glycerin-Agar, nur schmäler. Die Culturmasse klebend.	Strichband etwas dicker und breiter als auf Glycerin-Agar. Die Culturmasse klebend.	Dickeres und breiteres Strichband als auf Glycerin-Agar, d. Culturmasse nicht klebend.	Etwas schmäleres Strichband als auf Glycerin-Agar; die Culturmasse klebend.
9. VIII.	Strichband leicht gewachsen, aber weniger als auf Glycerin-Agar.	Strichband verdickt u. leicht verbreitert, üppiger gewachsen als auf Glycerin-Agar.	Breites u. dickes Strichband; üppigeres Wachsthum als auf Glycerin-Agar.	Belag dicker und breiter als gestern; aber Wachsthum geringer als auf Glycerin-Agar.
10. VIII.	Keine Veränderung; Strichband schmäler als auf Glycerin-Agar; die Ränder unregelmässig grob u. wenig lappig.	Strichband verdickt und verbreitert, d. Ränder theils grob u. theils fein, aber im allgem. wenig lappig. Wachsthum üppiger als auf Glycerin-Agar.	Belag verdickt u. verbreitert; die Ränder fein oder grob, wenig lappig; üppigeres Wachsthum als auf Glycerin-Agar.	Belag dicker; die Ränder grob oder fein, wenig lappig; schmäler und zackiger als auf Glycerin-Agar.
11. VIII	Keine Veränderung.	Keine Veränderung, dickeres Wachsth. als a. Glycerin-Agar.	Keine Veränderung; dickerer Belag als auf Glycerin-Agar.	Keine Veränderung.
12. VIII.	Keine Veränderung	Keine Veränderung	Keine Veränderung.	Keine Veränderung
13. VIII.	Strichband leicht verbreitert; die Ränder theils grob, theils fein lappig.	Strichband leicht verbreitert und verdickt; die Ränder wie Cultur I beschaffen.	Belag leicht verbreitert; die Ränder grob und unregelmässig stark lappig.	Keine Veränderung; die Ränder wie Cultur III.
22. VIII.	Grauweisses, dickes, breites und feuchtes Strichband; die Ränder grob lappig.	Belag schmal aber dick, weissgrau und feucht; die Ränder fein lappig.	Belag schmal im Vergleich mit anderen Culturen und feucht, weissgrau; die Ränder höckerig, stark lappig.	Belag sehr dick, feucht grauweiss; schmal im Vergleich mit anderen Culturen; die Ränder fein lappig.

Digitized by Google

In Glycerin-Bouillon.

	Cultur I	Cultur II	Cultur III	Cultur IV
8. VIII.	Leichte Trübung mit theils wolkigem, theils knotigem Bodensatz.	Wie Cultur I.	Ganz klare Bouillon, aber wolkiger u. knotiger Bodensatz sichtbar.	Wie Cultur I.
9. VIII.	Gleichmässige Trübung; durch Erschütterung steigt nur wenig Bodensatz auf.	Wie Cultur I.	Wenige Trübung; durch Erschüttern steigt eine geringe Menge von knotig-sandigem Bodensatz auf.	Wie Cultur I
10. VIII.	Keine Veränderung	Etwas wenigere Trübung als Cultur I, fein wolkiger Niederschlag bemerkbar.	Ganz leichte Trübung, fast klar; geringe Menge von sandigem Bodensatz sichtbar.	Wie Cultur I.
11. VIII.	Keine Veränderung; geringe Menge von pulverförmigem fadenziehenden Bodensatz sichtbar.	Wie Cultur I.	Bouillon fast klar, nur an der Wand sandiger Niederschlag anhaftend, u. geringe Menge v. wolkig. Bodensatz sichtbar.	Wie Cultur I.
12. VIII.	Keine Veränderung.	Wie Cultur I.	Keine Veränderung; jedoch Niederschl. am Boden liegend.	Wie Cultur I
13. VIII.	Gleichmässig starke Trübung.	Wie Cultur I.	Keine Veränderung, nahezu klar.	Wie Cultur I.
22. VIII.	Gleichmässige Trübung; durch Erschüttern steigt reichliche Menge von faserig-wolkigem Bodensatz auf.	Etwas leichtere Trübung als Cultur I; Bodensatz geringer.	Klare Bouillon; geringe Menge von sandigem Bodensatz sichtbar.	Wie Cultur I.

Digitized by Google

In Bouillon ohne Glycerin.

	Cultur I	Cultur II	Cultur III	Cultur IV
8. VIII.	Leichte Trübung mit wolkigem Bodensatz.	Leichte Trübung m. geringem wolkigen Bodensatz.	Klare Bouillon mit sandiger Mischung.	Trübung mit wolkigem Bodensatz.
9. VIII.	Gleichmässige Trübung; durch Schütteln steigt faserig-wolkige Masse auf.	Deutliche gleichmässige Trübung; geringe Menge von Bodensatz sichtbar.	Leichte Trübung mit starkem Niederschlag.	Deutliche Trübung mit wolkigem Bodensatz.
10. VIII.	Keine Veränderung.	Wie Cultur I.	Mit fein wolkigen Massen gleichmässig gemischte, aber fast klare Bouillon; mehr sandiger Bodensatz nachweisbar.	Wie Cultur I.
11. VIII.	Keine Veränderung.	Wie Cultur I.	Keine Veränderung.	Wie Cultur I.
12. VIII.	Keine Veränderung.	Wie Cultur I.	Keine Veränderung; aber reichliche Menge v. wolkigem Bodensatz.	Wie Cultur I.
13. VIII.	Gleichmäss. starke Trübung.	Wie Cultur I.	Durch feine pulverförmige und wolkige Mischung gleichmäss. stark getrübte Bouillon mit einer reichlichen Menge v. sandig wolkig. Bodensatz.	Wie Cultur I.
22. VIII.	Gleichmässige Trübung; durch Erschüttern steigt eine reichliche Menge v. faserig-wolkigem Bodensatz auf.	Wie Cultur I.	Ganz schwache Trübung; durch Erschüttern steigt sandiger Bodensatz in reichlicher Menge auf.	Wie Cultur I, aber der Bodensatz nähert sich einer sandigen Masse.

Digitized by Google

In Traubenzucker-Bouillon (Gasprüfung).

	Cultur I	Cultur II	Cultur III	Cultur IV
8. VIII.	Keine Gasentwickelung; klare Bouillon mit wenig wolkigem Bodensatz.	Keine Gasentwickelung; ganz leichte Trübung mit einem geringen Bodensatz.	Keine Gasentwickelung; klare Bouillon mit einem geringen Bodensatz.	Keine Gasentwickelung; der obere Theil der Cultur stark, dagegen d untere Theil ders. schwach gleichmässig trüb.
9. VIII.	Kein Gas; gleichmässige Mischung durch einen geringen sandig. Niederschlag.	Kein Gas; Trübung durch gleichmässige Mischung mit wolkiger Masse.	Keine Veränderung.	Kein Gas; Bouillon zum grössten Theil klar; nur unten gleichmässig trüb.
10. VIII.	Kein Gas; wenige Vermehrung der grauen wolkigen Niederschläge.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.
11. VIII.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Kein Gas; fast klare, aber nur unten etwas trübe Bouillon.
12. VIII.	Kein Gas; ganz klare Flüssigkeit mit wolkigem Niederschlag am Boden.	Kein Gas; gleichmässige schwache Trübung; kein pulverförmiger Niederschlag.	Kein Gas; klare Flüssigkeit, nur in der Nähe des Bodens mit einer wolkig-pulverigen Masse gemischt.	Kein Gas, fast klare Flüssigkeit.
13. VIII.	Keine Veränderung.	Kein Gas; gleichmässige schwache Trübung mit einer reichlichen Menge v. grauem wolkigem Satz.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.
22. VIII.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Kein Gas; klare Bouillon mit einer gering. sandigen Masse an der Wand und am Boden.	Keine Veränderung.

Digitized by Google

In Milchzucker-Bouillon (Gasprüfung).

	Cultur I	Cultur II	Cultur III	Cultur IV
8. VIII.	Keine Gasbildung; klare Flüssigkeit mit einem geringen Bodensatz.	Keine Gasbildung; klare Bouillon; der untere Theil d. Cultur trüb; ganz geringer Bodensatz.	Keine Gasbildung; klare Bouillon mit einem geringen Bodensatz.	Keine Gasbildung; ganz klare Bouillon.
9. VIII.	Kein Gas; der untere Theil der Cultur leicht trüb; im übrigen klar.	Keine Veränderung.	Kein Gas; der untere Theil der Cultur trüb, sonst ganz klar.	Keine Veränderung.
10. VIII.	Kein Gas; fast ganze Cultur klar; gering. grauer Bodensatz im unteren Theile der Cultur.	Kein Gas; d. untere Theil der Cultur mit sandiger Masse gemischt, leicht graue Trübung in der Nähe des Bodens; im übrigen ganz klar.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.
11. VIII.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Kein Gas; klare Bouillon mit einer geringen Menge v. kaum sichtbarem, m. sandig. Bodens.
12. VIII.	Kein Gas; klare Bouillon, nur der untere Theil der Cultur undeutlich trüb; geringer Bodensatz.	Keine Veränderung; nur der untere Theil gleichmässig schwach trüb.	Keine besondere Veränderung; der untere Theil der Cultur gleichmässig pulverig gemischt.	Keine Veränderung.
13. VIII.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Kein Gas; d. untere Theil der Cultur scheint etwas wolkig.	Keine Veränderung.
22. VIII.	Keine Veränderung.	Keine Veränderung.	Klare Bouillon mit ein. reichl. Menge v. sandig. Bodensatz.	Keine Veränderung.

Digitized by Google

Auf Gelatine-Platten.

Cultur I.

9. VIII.: Die Colonien sind klein, die ganze Fläche fein granulirt, leicht gelblich; die Ränder grob gelappt, zeigen doppelte Contur.

10. VIII.: Colonien sind nicht so stark gewachsen wie bei den andern drei Culturen, zeigen sich schwach gelblich; die Lappen an den Rändern confluirt.

11. VIII.: Durch die Confluirung vieler, mehr rundlich gestalteter, gelblicher, granulirter Colonien mit doppelten Conturen entsteht eine grosse Colonie, deren Ränder theils mehr glatt, theils durch Confluiren der Colonien etwas lappig erscheinen. Die glatten Ränder sind hell und etwas unregelmässig. Makroskopisch zeigen sie sich von Anfang an als etwas gelbliche, dicke, rundliche oder unregelmässige Punkte oder Flecke, deren Ränder wenig strahlig, und deren Oberflächen nicht glatt sind. Alle vier Culturen erscheinen miteinander ähnlich, jedoch Cultur I etwas zarter als die anderen.

12. VIII.: Keine besondere Veränderung; zarter als die anderen Culturen, welche viel dicker gewachsen sind.

13. VIII.: Keine besondere Veränderung; viel zarter als die übrigen Culturen.

Cultur II.

9. VIII.: Wie bei Cultur I.

10. VIII.: In der Mitte sehen die Colonien wie Cultur I aus, aber an der Peripherie zeigen sie eine helle, breite, granulirte, unregelmässig ausgebuchtete Zone.

11. VIII.: In der Mitte sehen die Colonien wie Cultur I aus und zeigen sich dunkel gelblich; an der Peripherie jedoch zeigen sie sich auf eine ziemlich breite Strecke ganz hell, granulirt und unregelmässig gelappt.

12. VIII.: Sehr verdickt, sonst keine Veränderung.

13. VIII.: Sehr gewachsen und verdickt.

Cultur III.

9. VIII.: Wie Cultur I, nur die Ränder unregelmässig ausbuchtend.

10. VIII.: Wie Cultur II.

11. VIII.: Wie Cultur II.

12. VIII.: Wie Cultur II; nur die peripherische, helle Zone viel breiter als die Cultur II.

13. VIII.: Stark gewachsen und verdickt.

Cultur IV.

9. VIII.: Wie Cultur I.

10. VIII.: Wie Cultur II.

11. VIII.: Wie Cultur II.

12. VIII.: Wie Cultur II.

13. VIII.: Wie Cultur II.

Digitized by Google

Auf Platten von Glycerinagar in der Bruttemperatur.

Cultur I.

9. VIII.: Die Colonien sind unregelmässig, rundlich, oval oder verschieden gestaltet; an der Peripherie etwas hell, in der Mitte dunkel; alle Colonien erscheinen granulirt und fein höckerig; die Ränder fein wolkig gelappt aber nicht strahlig.

10. VIII.: Die Form ist mehr rundlich, auf der ganzen Strecke etwas dunkel; an der Peripherie eine hellere Zone; die Ränder glatt.

11. VIII.: Die Colonien sind etwas gewachsen; die ganze Coloniemasse zeigt sich haarig und strahlt nach der Peripherie zur schrumpfenden, kurzen, haarigen Masse. Makroskopisch zeigen sie sich von Anfang an bis zu dieser Zeit als grauweisse, etwas dicke, rundlich oder unregelmässig geformte Flecke mit fein gelappten Rändern.

12. VIII.: Die Colonien sind verdickt und dunkler als das letzte Mal; die Ränder gleichmässig scharf; Peripherie-Zone hell.

13. VIII.: Verdickt; in der Mitte zeigen sich die Colonien gelblich, an der Peripherie dünne glänzende Zone, in der Zwischenschicht dickere dunkle Zone gebildet.

Cultur II.

9., 10. und 11. VIII.: Wie Cultur I.

12. VIII.: Wie Cultur I, nur nicht so dunkel wie die Cultur I.

13. VIII.: Keine Veränderung.

Cultur III.

9., 10. und 11. VIII.: Wie Cultur I.

12. VIII.: Die Colonien sind zart und schwach gewachsen, und deshalb zeigen sie sich heller und die Ränder nicht so regelmässig wie Cultur I und II.

13. VIII.: Keine Veränderung.

Cultur IV.

9. VIII.: Wie Cultur I; aber die Ränder nicht so glatt, sondern sie zeigen sich mehr haarig und geflochten.

10. VIII.: Wie Cultur I; aber die Ränder sind unregelmässig zackig, während die anderen drei Culturen mehr grob rundlich, lappig gestaltet sind.

11. VIII.: Keine grosse Veränderung, aber etwas verbreitert.

12. VIII.: Zarter als Cultur I und II; Ränder unregelmässig.

13. VIII.: Keine grosse Veränderung; die Ränder unregelmässig und undeutlich.

Bei Gelatine-Strich.

Cultur I.

11. VIII. 98: Dieselbe wurde in Gelatine geimpft.

12. VIII.: Die Cultur entwickelt sich als ein dicker, aber lockerer, gelblicher, rauher Stich, dessen oberes Ende etwas grubig aussieht.

13. VIII.: Der Stich ist etwas verdickt, aber nicht fest und sieht gelblich aus; die Ränder des Stiches sind rauh.

Digitized by Google

14. VIII.: Etwas verdickt und verdichtet, die Oberfläche der Cultur nicht bewachsen.

15. VIII.: Keine Veränderung.

16. VIII.: Verdickung und Verdichtung des Stiches.

17. VIII.: Keine besondere Veränderung; der Stich ist dick und dicht, grangelb; die Ränder unregelmässig faltig. Das obere Ende des Stiches ist auf eine kleine Strecke beschränkt, die Oberfläche dick und grauweiss, membranös; die Ränder gelappt.

Die übrigen drei Culturen (II, III und IV) wurden ebenfalls untersucht; sie befinden sich in demselben Zustand wie bei Cultur I. Nur entwickelt sich Cultur III am 17. VIII. 98 an der Oberfläche des Stiches auf eine kleine Strecke dünn und durchscheinend. Bei Cultur IV ist es etwas dicker entwickelt als bei den anderen und zeigt sich matt grauweiss; die Ränder unregelmässig.

In Milch

wurden alle vier Culturen geimpft und über einen Monat lang genau beobachtet. Ich konnte constatiren, dass die Bacillen aller Arten keine Veränderung in der Milch hervorriefen.

Auf Kartoffeln

wurden die Culturen ebenfalls geimpft und in den Brütofen gestellt, und am 8., 9., 10., 11., 12. und 22. VIII. beobachtet; ich konnte constatiren, dass sie auf Kartoffeln keinen sichtbaren Belag, sondern nur trockene, grauweisse Flecke bilden.

Auf Kartoffeln, welche mit 10proc. Glycerinwasser gegossen wurden, wurden die Culturen gleichfalls geimpft und zeigten kein anderes Resultat als auf gewöhnlichen Kartoffeln.

Das morphologische Verhalten der Bacillen auf verschiedenen Nährböden.

Bacillen auf Glycerinagar.

Untersuchungen vom 8. VIII. 98, am zweiten Tag nach der Impfung.

Cultur I.

Die meisten der Bacterien sind dick und ziemlich lang, und deren Enden unregelmässig rundlich oder etwas spitzig. Es finden sich aber auch solche Bacillen, deren eines Ende rund und deren anderes spitzig ist, wodurch sie ein keulenförmiges Aussehen erhalten. Manchmal zeigen sie sich in der Mitte ganz schwach gefärbt.

Die zweite Form der Bacillen sind dicke, kurze Bacillen, deren beide Enden rundlich und deren Mitte zuweilen ebenfalls schwache Färbung zeigt.

Drittens bilden sie längere Fäden, welche stellenweise ungefärbt bleiben und deshalb oft eine streptococcenähnliche Form zeigen. Ueberhaupt färben sich die Conturen der Bacillen nicht scharf.

Digitized by Google

Cultur II.

Die meisten Bacterien sehen wie ein dickeres Bacterium mit rundlichen Enden aus, welches sehr oft in der Mitte ganz ungefärbt erscheint. Es gibt aber wenige lange Bacillen und Bacillenfäden. Die Conturen der Bacterien treten überhaupt gut gefärbt hervor.

Cultur III.

Die Bacterien sind denjenigen von Cultur I sehr ähnlich, zeigen aber meistens lange Bacillen und sehr oft sogar Bacillenfäden.

Cultur IV.

Die meisten Bacterien zeigen sich in der Form eines Bacteriums oder eines kurzen Bacillus, nur sehr wenige in der Form von langen Bacillen, und noch seltener bilden sie Bacillenfäden. Manchmal findet man fast coccenförmige Bacterien. Die Conturen des Bacterienleibes sind ebensowenig scharf wie bei Cultur I.

Mit Fuchsinlösung färben sie sich etwas schärfer als mit Methylenblaulösung. Unter allen vier Culturen findet man sog. bläschenförmige Bacillen sehr selten.

An demselben Tage wurden die Bacillen von vier Culturen nach Gram genau vorschriftsmässig und sehr vorsichtig behandelt und constatirt, dass alle Bacillen bei dieser Behandlung sich vollkommen entfärben.

Untersuchung vom 13. VIII. 98, am siebenten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Die Bacterienform ist viel unregelmässiger als das letzte Mal, und man findet zahlreiche aufgequollene, dicke Bacillen darunter.

Cultur II.

Die Bacillen sind viel unregelmässiger gestaltet als das letzte Mal, und zahlreiche coccenförmige Bacillen sind zu sehen.

Cultur III.

Mehrere unregelmässig gestaltete Bacillen und viele Involutionsformen.

Cultur IV.

Etwas unregelmässigere Bacillen.

Bacillen auf gewöhnlichem Agar.

Untersuchung vom 8. VIII. 98, am zweiten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Die Bacillen erscheinen ebenso wie auf Glycerinagar, aber man findet sehr zahlreiche lange Bacillen und Bacillenfäden. Sie sind nicht gut gefärbt.

Cultur II.

Ebenso wie auf Glycerinagar. Die Conturen des Bacillenleibes erscheinen auch ebenso wie bei denjenigen auf Glycerinagar, aber deutlicher als die Bacillen von anderen Culturen.

Digitized by Google

Cultur III.

Die Bacterien kommen in der Form des Bacillus, Bacteriums und Coccus vor. Dagegen sind die fadenförmigen Bacillen selten.

Cultur IV.

Die Form der Bacterien ist ebenso wie bei Cultur I, aber alle Bacillen zeigen lange oder kurze Fäden. Sie bilden manchmal sehr lange Fäden und Plexus. Die gewöhnliche Bacillenform ist spärlich; die Bacteriumform noch seltener.

Untersuchung vom 10. VIII. 98, am vierten Tage nach der Impfung.

Nach Gram legte ich die mit Bacillen bestrichenen Deckgläschen 10 Minuten lang in die betreffende Farblösung, dann längere Zeit in 50 proc. Alkohollösung. Alle Bacillen haben sich dadurch nicht entfärbt, vielmehr nahmen sie eine tief blaue, scharf conturirte Färbung an und zeigten sich in folgenden Formen.

Cultur I.

Coccenförmige, ovale, keulenförmige, bisquit-, bacterium- und bacillenförmige Bacterien.

Cultur II.

Vorstehendes Auftreten in der Form des Bacteriums; daneben zeigt sich auch die Form des Bacillus; viele treten auch in der Coccenform auf.

Cultur III.

Die meisten sind lange Bacillenfäden, welche gleichmässig und stark gefärbt sind.

Cultur IV.

Form von Coccus, Bacillus oder ovalen, auch bisquitförmigen Bacterien.

Alle vier Bacillenarten haben sich sehr tief und gleichmässig gefärbt, ohne Verschiedenheit des Färbungsgrades.

Untersuchung vom 13. VIII. 98, am siebenten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Die Bacillenformen sind sehr unregelmässig und fast alle sind keulenförmig, nur wenige in der gewöhnlichen Bacillenform. Erstere Bacillen sind unregelmässig oval, sehr aufgequollen und vergrössert.

Cultur II.

Die Bacillen erscheinen ebenfalls in der sehr ungleichmässigen, meist aufgequollenen Coccen- und Bacillenform, auch in der ovalen Form. Sie färben sich sehr gut wie Cultur I.

Cultur III.

Die meisten Bacillen zeigen lange, plexusbildende Bacillenfäden, deren einzelne Bacillen unregelmässige Grösse und ungleichmässige Färbung aufweisen.

Cultur IV.

Die Bacterien zeigen sich in der unregelmässig und schwach gefärbten Bacillenform.

Digitized by Google

Bacillen in Glycerin-Bouillon.

Untersuchung vom 9. VIII. 98, am dritten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Die Bacillen sind kurz und schmäler und kleiner als auf Agar; sie färben sich nicht in der Mitte. Es gibt aber lange Bacillen, bei welchen die gefärbten wie die ungefärbten Stellen sich abwechselnd bald regelmässig, wie bei Diplococcen, bald unregelmässig finden. Manchmal findet man auch Bacillenfäden wie bei Streptococcen.

Cultur II.

Die Bacterien färben sich tiefer, und ihre Contur ist deutlicher als wie bei Cultur I. Meistens bilden sie lange Bacillenfäden, bei welchen die gefärbten wie die ungefärbten Stellen abwechseln, und deren gefärbte Partien öfters mehr rundlich als bei Coccen erscheinen. Deshalb sind sie Streptococcen und Cultur I sehr ähnlich. Betrachtet man sie genauer, so findet man auch diplococcenähnliche Gebilde.

Cultur III.

Meistens bilden die Bacillen lange, regelmässig gestaltete Bacillenfäden, deren einzelne Bacillen an beiden Enden abgerundet sind. In den Bacillenfäden finden sich sehr selten ungefärbte Stellen; die meisten sind auf der ganzen Strecke gleichmässig gefärbt. Die Contur des Bacillenleibes ist etwas deutlicher als bei Cultur I und IV.

Cultur IV.

Die meisten Bacillen sind kurze Bacterien, welche in der Mitte in der Regel schwach gefärbt sind. Nur selten findet man die auf ganzer Strecke gut gefärbten Bacillen, ebenso selten finden sich ovale, bläschenförmige Bacterien. Auch lange, streptococcenähnliche Fäden sind selten. Die Contur des Bacterienleibes ist nicht scharf.

Untersuchung vom 13. VIII., am siebenten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Schwach oder unregelmässig gefärbte Bacillenfäden.

Cultur II.

Unregelmässige Coccen- und kurze Bacillenformen.

Cultur III.

Schlanke, richtig geformte, kurze oder lange Bacillen.

Cultur IV.

Kurze und etwas unregelmässige Bacillenform.

Bacillen in gewöhnlicher Bouillon.

Untersuchung vom 9. VIII. 98, am dritten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Die meisten Bacillen stellen lange Bacillen und Bacillenfäden dar, die meist gute Färbung zeigen.

Digitized by Google

Cultur II.

Meist kurze Stäbchen, welche in der Mitte schwach gefärbt sind. Die gut gefärbten Stellen treten mehr in Coccenform auf. Es kommen aber auch die auf ganzer Strecke gut gefärbten Stäbchen vor.

Cultur III.

Lange Bacillen und Bacillenfäden, in welchen sich manchmal die gefärbten wie ungefärbten Stellen unregelmässig abwechselnd finden, sie treten aber auch auf ganzer Strecke gut gefärbt auf.

Cultur IV.

Die Bacillen stellen ovales oder längeres Bacterium dar, welches sich deutlich bläschenförmig zeigt. Es gibt jedoch lange Bacillen, die dennoch auch die Bläschenform zeigen.

Untersuchung vom 13. VIII. 98, am siebenten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Stark aufgequollene, schwach gefärbte, Höhlen bildende, unregelmässig gestaltete, dicke Bacillenfäden.

Cultur II.

Etwas unregelmässig gestaltete, lange Bacillen und kurze Bacillenfäden.

Cultur III.

Ziemlich regelmässig gestaltete, kurze oder lange Bacillen und Bacillenfäden.

Cultur IV.

Ziemlich regelmässig gestaltete, lange Bacillen und kurze Bacillenfäden.

Bacillen in Milch.

Untersuchung vom 9. VIII. 98, am dritten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Unregelmässig gestaltete Bacillen und Bacillenfäden, welche theils gut, theils schwach gefärbt sind.

Cultur II.

Keine wahrnehmbare Entwickelung von Bacillen. Deshalb wurde diese Cultur 2 Tage später nochmals untersucht, mit folgendem Befund: Meist regelmässige, lange Bacillen, welche auf ganzer Strecke schwach gefärbt sind, und in deren Mitte oder an den Enden zuweilen tief gefärbte Körnchen aufweisen. (Am fünften Tage nach der Impfung.)

Cultur III.

Unregelmässig gestaltete, fast auf der ganzen Strecke gut gefärbte Bacillen.

Cultur IV.

Ziemlich regelmässig gestaltete Bacillenform.

Untersuchung vom 13. VIII. 98, am siebenten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Ziemlich regelmässig gestaltete, lange Bacillen oder Bacillenfäden.

Digitized by Google

Cultur II.

Kurze und lange, etwas unregelmässig gestaltete Bacillen von verschiedener Grösse.

Cultur III.

Ausgesprochene Bacillenform.

Cultur IV.

Ausgeprägte gut gefärbte, lange Bacillen und Bacillenfäden.

Bacillen auf Kartoffeln.

Untersuchung vom 9. VIII. 98, am dritten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Theils regelmässig, theils unregelmässig gestaltete Bacillen. Die wenigsten der Bacterien zeigen sich in ovaler Bläschenform.

Cultur II.

Sie bieten sich als unregelmässig gestalteter Bacillus und auch als kurzes Bacterium dar.

Cultur III.

Unregelmässig gestaltete Bacillen in sehr geringer Anzahl.

Cultur IV.

Wie Cultur III.

Untersuchung vom 13. VIII. 98, am siebenten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Ziemlich gut gestaltete, schlanke Bacillen.

Cultur II.

Ziemlich regelmässig gestaltete, kurze Bacillen.

Cultur III.

Unregelmässig geformte Bacillen.

Cultur IV.

Dicke, unregelmässig gestaltete Bacillen.

Bacillen auf Kartoffeln, welche mit Glycerinlösung begossen wurden.

Untersuchung vom 9. VIII. 98, am dritten Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Unregelmässig gestaltete Bacillen in grosser Menge.

Cultur II.

Regelmässig gestaltete Bacillen, jedoch in nicht grosser Anzahl.

Cultur III.

Unregelmässig geformte Bacillen in grosser Menge.

Cultur IV.

Kurze und lange, unregelmässig gestaltete Bacillen in geringer Anzahl.

Digitized by Google

Untersuchung vom 13. VIII. 98, am siebenten Tage nach der Impfung.

Im allgemeinen kein deutliches Wachsthum; ein Zeichen, dass die Bacillen sich auf Kartoffeln mit Glycerinlösung nicht gut entwickeln.

Bacillen in Gelatine.

Untersuchung vom 13. VIII. 98, 2 Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Die Bacillen zeigen sich in sehr verschiedenen Formen, welche theils schwach, theils gut gefärbt sind, mit einigen Ausnahmen, bei welchen im Centrum und in der Mitte der Bacillen nur schwache Färbung auftritt.

Cultur II.

Lange und kurze, regelmässig gestaltete Bacillen mit abgerundeten Enden. Sie sind etwas besser gefärbt als Cultur I.

Cultur III.

Wie Cultur II; aber mehr lange Bacillen und Bacillenfäden.

Cultur IV.

Meist lange, vereinzelte, mehr gleichmässig gut gefärbte Bacillen.

Untersuchung vom 18. VIII. 98, 7 Tage nach der Impfung.

Cultur I.

Meist gut geformte, oder auch keulenförmige Bacillen, welche sich schwach färben.

Cultur II.

Gut gestaltete, stark gefärbte, kurze und lange Bacillen.

Cultur III.

Etwas regelmässig gestaltete, lange Bacillen.

Cultur IV.

Unregelmässig gestaltete, kurze und lange Bacillen.

Untersuchung der Beweglichkeit der Bacillen.

Die Beweglichkeit der Bacillen habe ich besonders vorsichtig auf dem geheizten Objecttisch bei einer Temperatur von 37° an Bacillen beobachtet, welche sich 4 Tage lang (6. bis 10. VIII. 98) in Glycerinbouillon entwickelt hatten.

Untersuchung vom 10. VIII. 98 Nachmittags.

Cultur I.

Die langen Fäden verhalten sich ganz ruhig, während die einzelnen kurzen Bacillen eine zitternde Molekularbewegung äussern.

Cultur II.

Nur undeutliche Molekularbewegung.

Cultur III.

Etwas deutlichere Molekularbewegung.

Cultur IV.

Undeutliche Molekularbewegung.

Digitized by Google

Zweite Untersuchung vom 12. VIII. 98.

Nach oben erwähnter Methode habe ich eine weitere Untersuchung vorgenommen an Bacillen anderer Cultur, welche sich 24 Stunden (11. bis 12. VIII. 98) in Glycerinbouillon entwickelt hatten.

Cultur I, II und **IV** geringe Molekularbewegung.

Cultur III.

Deutliche Molekularbewegung.

Mithin zeigen alle vier Arten des Bacillus keine echte Eigenbewegung.

Resultat.

Durch meine culturellen Untersuchungen konnte ich Folgendes nachweisen:

1. Die vier verschiedenen, von mir untersuchten Culturen zeigen, abgesehen von gewissen Schwankungen in der Virulenz, keinen wesentlichen bacteriologischen Unterschied.
2. Alle Bacillen entfärben sich sicher und vollkommen bei der Behandlung nach Gram.
3. Sie zeigen keine Eigenbewegung bei der Brüttemperatur, ebenso wenig in der frischen, wie in der alten Cultur.
4. Kapseln der Bacillen wurden weder in künstlichen Nährmedien, noch in den Ausstrichpräparaten nachgewiesen, welche mit Gewebssaft von kranken Thieren bestrichen wurden, dagegen besitzen die meisten Bacillen in den Schnittpräparaten eine helle, ungefärbte Zone ausserhalb des Bacterienleibes.
5. Die Milch wird in längerer Zeit nicht coagulirt, während die Bacillen hier geringe Entwickelung zeigen.
6. Auf Kartoffeln bilden die Bacillen nur ganz flache, grauweisse, trockene Flecke.
7. Die Eigenschaften der Bacillen auf den einzelnen Nährmedien lassen sich aus der oben gegebenen Beschreibung ersehen und brauchen daher hier nicht wiederholt zu werden.
8. Die graduellen Unterschiede zwischen verschiedenen Culturen beruhen hauptsächlich auf der Verschiedenheit der Lebensenergie und des Alters der einzelnen Culturen.

Digitized by Google

II. Pathologisch-Anatomisches und Pathologisch-Histologisches.

Was die pathologisch-anatomischen resp. pathologisch-histologischen Veränderungen bei der Pest anbetrifft, so müssen wir zunächst die beiden Objecte für unsere Untersuchungen, Menschen und Thiere, auseinander halten. An genauen Untersuchungen an Menschen, die wir zunächst hier anführen wollen, mangelt es leider noch bisher.

Wie wohl bekannt, war Aoyama[1]) der Erste, der uns eine umfangreiche Abhandlung über Pest gab; ihm folgte Yamagiwa[2]) mit sehr eingehenden, leider nur mit beschränktem Material ausgeführten Untersuchungen. Wirklich umfangreiche und sehr genaue Abhandlungen brachten uns in jüngster Zeit die beiden österreichischen Forscher Albrecht und Ghon[3]), sowie die Mitglieder von der deutschen Pestcommission[4]). Ausserdem liegt noch die Mittheilung von Wilm[5]) vor, welche sich auf reichliches Material gründet, und im Allgemeinen durch die späteren Angaben der deutschen Pestcommission bestätigt ist.

Das ist fast alles[6]), was wir bisher ausser der bekannten älteren Abhandlung Virchow's[7]) in Händen haben. Anschwellung, Nekrotisirung, oft auch Vereiterung der Inguinal- wie Axillardrüsen, nicht seltenes Auftreten der Pestpustel auf der Haut, ausgedehnte Hämorrhagien in den verschiedenen Organen, Anschwellung der Milz, trübe Schwellung und fettige Degeneration der parenchymatösen Organe — Nieren, Leber und Herz. —

---

1) Siehe Anmerkung 3 auf S. 107.

2) Siehe Anmerkung 4 auf S. 108.

3) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

4) Deutsche Pestcommission, Gaffky, Pfeiffer, Sticker, Dieudonné; Bericht über die Thätigkeit der zur Erforschung der Pest im Jahre 1897 nach Indien entsandten Commission. Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XVI, 1899. Sticker, Ueber die Pest nach Erfahrungen in Bombay. Münchener medic. Wochenschr., Nr. 1, 1898.

5) Siehe Anmerkung 3 auf S. 110.

6) Der vorzügliche Bericht Calmette's in den Annales de l'Institut Pasteur, Bd. XIII, 12 konnte wegen bereits erfolgter Drucklegung der vorliegenden Abhandlung leider nicht mehr verwerthet werden.

7) Virchow, Berliner klin. Wochenschrift, Nr. 9, 1879.

Digitized by Google

oftmalige Bildung von metastatischen Herden in Milz, Leber, Nieren und Lungen, sowie auch häufiges Vorkommen von Pneumonie und Eindringen des Mikroorganismus in den Kreislauf werden von den meisten oben erwähnten Autoren übereinstimmend als wichtige Erscheinungen der Pest genannt.

Bei genauer Analysirung der einzelnen beschriebenen Veränderungen und Processe fallen uns aber dennoch Abweichungen auf.

Fangen wir unsere Betrachtung mit den Lymphdrüsen an, so sehen wir zunächst, dass Aoyama[1]) in den afficirten Drüsen ausser dem Pestbacillus noch Mikrococcen und Streptococcen vorfand, die ersteren hauptsächlich in den Lymphsinus und Lymphspalten der Lymphdrüsen, die letzteren meistens in den Blutgefässen derselben. Dieses Zusammentreffen der verschiedenen Bacillen hielt er in Betreff der Eiterung der Lymphdrüsen für höchst wichtig, da er oft keine Eiterung in den, durch den Pestbacillus afficirten Lymphdrüsen antraf.

Yamagiwa[2]) beobachtete auch niemals Eiterung in denjenigen afficirten Lymphdrüsen, wo Hämorrhagie, Infiltration und Erweichung constant nachgewiesen wurden. Auffällig war ihm die hochgradige Infiltration der Venenwand, was ihm für die umfangreiche Blutung in- und ausserhalb der afficirten Drüsen als unleugbare Hauptbedingung erschien. »Während in der von Lebenden exstirpirten Drüse und deren Umgebung nur jene bläschenartigen Mikroorganismen gefunden worden sind, begegnet man in den wenigen extra- (und intra-) glandulär befindlichen Gefässen der Drüse aus der Leiche auch noch diplococcenartigen Stäbchen, welche nach der Gram'schen Methode sich nicht entfärben. Sie sind auch in Gefässen der Lunge, der Niere und Leber gefunden worden« (Yamagiwa).

Von Albrecht und Ghon[3]) wurden zwei besondere Arten von Veränderungen hervorgehoben, deren eine mit der Angabe

1) Siehe Anmerkung 3 auf S. 107.

2) Siehe Anmerkung 4 auf S. 108.

3) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

der oben erwähnten Verfasser im Gegensatz steht, deren andere von diesen gar nicht erwähnt wurde.

Erstens: »Während in den früher erwähnten Stadien eine scharfe Unterscheidung zwischen rein nekrotischer Einschmelzung (puriformer Erweichung) und echter Eiterung nicht zu treffen ist, weil sie thatsächlich nebeneinander bestehen, handelt es sich in den späteren Stadien um wirkliche Eiterung, wie auch der mikroskopische Befund zeigt.«

Zweitens: »Sie (die Veränderungen an den Blutcapillaren und Gefässen) bestehen in nekrotischen Vorgängen der Gefässwand und in einem höchst eigenartigen Gerinnungsprocess von Blutbestandtheilen, vielleicht auch der Intercellularflüssigkeit der Gewebe. Gleich hier sei hervorgehoben, dass sich genannte Veränderungen immer dort finden, wo die Pestbacillen besonders reichlich nachweisbar sind, wo unter dem Zerstörungsprocess nichts mehr vom Gewebe übrig geblieben ist als die resistenteren Gefässe.« »Im Lumen eines solchen Gefässes findet sich nun ein ganz ähnliches Balkenwerk, das sich manchmal auch in etwas feinere Fäden auflöst oder in unregelmässige Klumpen und Bröckel übergeht.« Solche Masse tritt nicht nur im Umkreis der Gefässe auf, sondern auch unabhängig von diesen mitten in dem infiltrirten, im Zugrundegehen begriffenen Parenchym. Zweifellos handelt es sich hier um eine Art der Gerinnung oder Nekrose, die unter dem Einflusse der schweren, von den Pestbacillen ausgehenden und diffundirbaren Giftstoffe entsteht.«

Was die Natur dieses Balkenwerkes anbetrifft, so ist es weder seiner Form, noch seinem negativen Verhalten gegenüber der Weigert'schen Fibrin-Färbungsmethode nach, als gewöhnliches Fibrin anzusehen. Vielmehr neigen die Verfasser sich der Ansicht zu, es anzusehen: »als das Product einer eigenthümlichen Gerinnung oder Coagulation, die unter der Wirkung des Pestgiftes im Blut der Gefässe oder in ihrer Umgebung entsteht«.

Ausserdem beschrieben die beiden Verfasser eine zweite der Veränderungen, die bei den secundären Bubonen stattfindet und ein wesentlich anderes Bild (Hyperämie und Erweiterung der

Digitized by Google

Sinus) zeigt. Der Pestbacillus entfärbt sich hier prompt durch die Weigert'sche Modification der Gram'schen Methode. Wenn man aber die Entfärbung durch Anilinöl nur unvollständig durchführt, so sieht man häufig die Pestbacillen blauviolett oder purpurroth gefärbt. Sie führen weiterhin an: »Von Wichtigkeit erscheinen die histologisch-bacteriologischen Befunde jener primären Bubonen, die in ihrem Centrum ausgedehnte Nekrose und eitrige Einschmelzung erkennen lassen. Im Allgemeinen finden sich hier nur recht spärliche Pestbacillen und zwar in stark degenerirter Form.«

Als die secundär inficirenden Bacterien haben sie Strepto- Diplo- oder Staphylococcen nachgewiesen.

Die sog. metastatischen Herde in Milz, Leber, Nieren und Lungen wurden zunächst von Yamagiwa[1]) genau histologisch untersucht, nachdem Aoyama zweimal in der Leber, einmal in der Lunge metastatische Abscesse beobachtet hatte, die aber ein ganz anderes Wesen gezeigt hatten wie bei Yamagiwa. Nach Letzterem sind die Metastasen so beschaffen: Leber: cirkumscripte, entzündliche Herde infolge von Bacterienembolie. Die Herde bestehen aus der Colonie, der Reincultur der bläschenartigen Mikroorganismen, ... dem centralen, nekrotischen Theil mit der blutigen Infiltration und der Beimengung von reichlichen, eben genannten Mikroorganismen, und aus der umgebenden Infiltrationszone. (Fall III).«

Milz: »Kleine, nekrotische Herde mit bläschenartigen Mikroorganismen (Fall II.). Cirkumscripte, entzündliche Herde infolge der Bacterienembolie. Diese Herde bestehen aus der umgebenden Infiltrationsschicht mit mehr- und gelappt-kernigen Zellen, aus den inselartig aneinander liegenden Colonien der oben genannten bläschenartigen Mikroorganismen, und aus der centralen, nekrotisch-hämorrhagischen Zone (Fall III).«

Lunge: Die katarrhalisch-pneumonisch aussehenden Herde, in deren centraler Zone sowohl ein Gefässlumen, als auch in Alveolen, besonders längs der Blutgefässe, die Reincultur von bläschenartigen Mikroorganismen vorhanden sind.

1) Siehe Anmerkung 4 auf S. 108.

Digitized by Google

Albrecht und Ghon [1]) schreiben: Milz: »Vor allem die feine Chagrinirung und der tief dunkelrothe Farbenton verleihen der Pestmilz ein so eigenartiges, charakteristisches Aussehen . . .« »In vielen Fällen fanden sich nun ungemein zahlreiche kleine, nekrotische Herde besonderer Form.« »Jedenfalls stellen sie sowohl ihrer ganz constanten Zahl und Form, wie ihrer Reichhaltigkeit nach eine für die Pestmilz ganz charakteristische Veränderung vor, die sich derartig bei keiner bisher bekannten Infectionskrankheit findet.«

»Bei der ganz gleichmässigen Vertheilung der Pestbacillen findet man nirgends Verstopfung eines Gefässlumens durch einen Embolus, sondern die Quelle für die histologischen Veränderungen und namentlich für das Zustandekommen der Herde liegt in den . . . infiltrirenden Bacillen. Unter deren Einfluss kommt es zur Nekrose der Wand des Capillarrohres mit eigenthümlicher Gerinnung oder Coagulation derselben und des . . . Blutes und mit Zerfall der Zellen ihrer Umgebung. . . . So ist das Zustandekommen dieser Herde als eine von aussen her auf das Capillarrohr gerichtete Wirkung zu deuten und nicht in der Weise wie bei einem Embolus, . . .«

Leber: Hier beobachteten die Verfasser sog. metastatische Herde eigenthümlicher Form in drei Fällen. »Dieselben sind multipel im ganzen Lebergewebe zerstreut, von unregelmässiger Form und meist klein . . . Sie bestehen aus einem . . . gelblich gefärbten, wie nekrotisch aussehenden Centrum, das von einem . . . hämorrhagischen Bande umgeben ist.«

»Histologisch bestehen diese Herde zunächst aus enormen Mengen von Pestbacillen. . . . Die Peripherie wird von zahlreichen polynucleären Leukocyten und Hämorrhagien gebildet, im Bereiche, welcher auch die eigenthümlichen Gerinnungsbilder entstehen.«

Diesen beiden Autoren scheinen diese Herde in kleineren Arterien der Glisson'schen Kapseln zu entstehen.

»Während also makroskopisch diese Leberherde mehr das Aussehen von frischen Nekrosen haben, tritt histologisch neben

1) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

der Nekrose die massenhafte Bacilleninfiltration und das Bild der Eiterung zu Tage.« Ausserdem fanden sie zuweilen zellige Infiltrate um die kleinen Aeste der Arterien in der Glisson'schen Kapsel und reichliche Pestbacillen in den Capillaren.

»Das Vorkommen von solchen metastatischen Herden in der Leber reiht manche Formen der Pest in die Gruppe der pyämischen Erkrankungen.«

Niere: »An vielen Pestnieren findet sich eine sehr auffallende Glomerulusveränderung. Die einzelnen Capillarschlingen derselben sind nämlich in Stränge umgewandelt, die . . . aus balkig oder fadig aussehenden Gerinnseln bestehen.« »Auch hier handelt es sich um Coagulationen im Blute, im Gewebssafte und der Gefässelemente selber.«

Sie fanden also in der Nierenrinde und vorzüglich im Wundernetze der Glomeruli zahlreiche Pestbacillen, die hier ihre zerstörenden Wirkungen geltend machten. »Sehr bemerkenswerth sind die embolischen Blutungen in der fibrösen Kapsel der Niere. Sie stellen Blutflecken vor, die häufig ein gelbes, fast nur aus Pestbacillen bestehendes Centrum besitzen.«

Lunge: Genaue Untersuchungen über die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Pestlungen verdanken wir Albrecht und Ghon, die die sog. Pestpneumonie in primäre und secundäre Formen eintheilten, und unter den letzteren wiederum die rein metastatisch-embolischen von den durch Aspiration oder durch Aspirationsbronchitis entstandenen Formen trennen. »Die primäre Pestpneumonie stellt eine typische confluirende Lobulär- oder Bronchopneumonie vor«. . . . »Die secundären, metastatisch-embolischen Pneumonien sind . . . vor Allem durch ihre Multiplicität und ihren peripheren Sitz charakterisirt.«

Die sog. Aspirationspneumonien werden nach den beiden Verfassern nicht nur durch Pestbacillus allein hervorgerufen, sondern auch durch verschiedene andere Mikroorganismen, die ohne Zweifel von den schweren, nekrotisch-diphtheritischen Entzündungen der Tonsillen und Follikel am Zungengrunde oder Pharynx abstammen. Sie stellen einzelne bronchopneumonische

Digitized by Google

Herde dar. Die oben genannten Pneumonien zeigen histologisch: die erweiterten Alveolen sind fast nur von enormen Bacillenmassen oder von Blut erfüllt, und die metastatischen Pestherde sind von einem hämorrhagischen Hof und reichlichem Oedem umgeben. Eigenartige Veränderungen weisen die Alveolarsepten auf, die auffallend verbreitert und in ein stark glänzendes Balkenwerk umgewandelt sind. Dabei müssen auch die als nekrotisirend aufzufassenden Veränderungen der Alveolarsepten erwähnt werden.

In der Abhandlung der deutschen Pestcommission[1]) finden wir Folgendes über die anatomischen Veränderungen der Lungenpest: »Es handelt sich bei der lobulären Form meistens um einen sehr ausgebreiteten Process, der die Unterlappen bevorzugt; die lobuläre Form ist durch eine eigenthümliche Mischung der verschiedensten Hepatisationsstadien und durch den begleitenden serösen Katarrh auffallend.«

Wenden wir uns jetzt zu dem Resultat der Blutuntersuchung, so sehen wir, dass Kitasato[2]) das Vorkommen des Pestvirus im Blut von grossem Werth angesehen hat, während Yamagiwa[3]) behauptet: »Aber der negative Befund des Pesterregers im Fingerblute eines verdächtigen, ja sogar eines ganz typischen Falles von Bubonenpest keineswegs berechtigt, die Bubonenpest auszuschliessen.« Als Beispiel führte Letzterer einen interessanten Fall mit tödtlichem Ausgang an, indem nach wiederholten Untersuchungen des Blutes kein Bacillus gefunden wurde, während in Gewebsstücken aus der incidirten Inguinaldrüse Pestbacillen in grosser Anzahl vorhanden waren. Ogata[4]) fand auch in den meisten untersuchten Fällen keine Bacillen im Blut.

Albrecht und Ghon[5]) haben in 55 unter 122 klinisch sichergestellten Pestfällen culturell den Pestbacillus in vivo im Blute nachweisen können, was einem Verhältnis von ca. 45%

1) Siehe Anmerkung 4 auf S. 128.
2) Siehe Anmerkung 1 auf S. 107.
3) Siehe Anmerkung 4 auf S. 108.
4) Siehe Anmerkung 3 auf S. 108.
5) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

entspräche. Sie kamen zu der Schlussfolgerung: »Wir ersehen daraus zunächst, dass auch in Fällen, die in Genesung übergehen, in reichlicher Menge Pestbacillen im Blute nachgewiesen werden können, dass auch das reichliche culturelle Ergebnis nicht absolut eine schlechte Prognose geben muss, dass aber im Allgemeinen dem reichlichen Auftreten der Pestbacillen im Blute bald der Tod folgt . . .«

Nach der Angabe der deutschen Pestcommission[1]) ist das Resultat der Blutuntersuchung folgendes: »Von 124 auf der Höhe der Krankheit sich befindenden Patienten wurden bei 81 auch bei wiederholter Untersuchung des Blutes keine Bacillen, bei 10 wurden bei der einen Untersuchung solche gefunden, bei einer anderen nicht und bei 33 Kranken war das Ergebnis stets ein positives. Alle diese letzteren Befunde betrafen schwere Kranke, die meist kurz darauf starben; nur drei von ihnen kamen mit dem Leben davon. Von den 81 Kranken mit negativem Blutbefunde blieben dagegen 52 am Leben und 29 starben. Von den 10 Fällen mit bald positivem, bald negativem Blutbefunde starben 8 und 2 kamen zur Genesung.«

Zum Schluss möchte ich von der Wilm'schen Mittheilung[2]) nur den Schlusssatz seiner anatomischen Untersuchung angeben: »Nach den pathologisch-anatomischen Veränderungen erscheint somit die Pest als eine Krankheit, welche sich durch entzündliche Schwellung der äusseren und inneren, zumal der intestinalen Lymphdrüsen, grossen Milztumor, parenchymatöse Störung in Leber und Nieren, Entzündung der Hirnhäute und durch die Entstehung von Hämorrhagien charakterisirt.«

Auf ein weiteres Eingehen auf die pathologischen Veränderungen an Menschen verzichte ich, und gehe also zur Betrachtung der Erscheinungen bei den Versuchsthieren über. Vor allem wollen wir die beiden Entdecker des Erregers reden lassen: Nach Kitasato[3]) sterben die empfänglichen Thiere innerhalb

1) Siehe Anmerkung 4 auf S. 128.

2) Siehe Anmerkung 3 auf S. 110.

3) Siehe Anmerkung 1 auf S. 107.

Digitized by Google

2—5 Tagen nach der Einspritzung der Cultur und finden sich Oedem und gallertiges Exsudat an der Injectionsstelle. Die Milz ist vergrössert, zuweilen ist Lymphdrüsenschwellung vorhanden, und man findet in diesen Organen die eingespritzten Bacillen. Ueber die Lymphdrüsen-Anschwellung fügte er in seiner zweiten Mittheilung hinzu, dass diese Anschwellung nur bei raschem, tödtlichem Ausgang fehlt, während sie sonst gewöhnlich sehr auffallend in den Vordergrund tritt.

Yersin[1]) gibt an, dass die Ratten, Mäuse (innerhalb 1—3 Tagen) und Meerschweinchen (innerhalb 2—5 Tagen) durch die Einspritzung der Cultur sterben, und dass die charakteristischen Leichenbefunde Folgendes ergeben: ausgedehntes hämorrhagisches Oedem an der Inoculationsstelle, erhebliche Anschwellung der benachbarten Lymphdrüsen, starke Vergrösserung und oftmalige Entwickelung eigenthümlicher miliarer Eruptionen, Hyperämie und Hämorrhagien der verschiedenen Organe. Eine grosse Anzahl der typischen Bacillen, welche oft in den mononucleären Leukocyten eingeschlossen werden, sind in den Lymphknoten, in der Milz und im Blut entwickelt.

Nach Okada[2]) sterben die Mäuse 65 Stunden nach subcutaner Impfung oder 20 Stunden nach Bauchhöhleneinspritzung und zeigen im letzteren Falle ausgedehntere Veränderungen als im ersteren Falle. Kaninchen sterben viel später, frühestens erst nach einer Woche, und zeigen ungefähr dieselben Veränderungen wie andere Thiere. Ogata[3]) nahm seine Versuche an verschiedenen Thieren vor. Mäuse starben nach 2—5 Tagen und zeigen ausser allgemeinen Veränderungen weisse Knötchen an der angeschwollenen Milz. Meerschweinchen sterben nach 2—6 Tagen. Kaninchen, Schweine, Katzen und junge Hunde zeigen geringere, Tauben und Hühner keine Empfänglichkeit. Alle verstorbenen Thiere zeigen allgemeine Veränderungen und manchmal auch weisse oder graue Flecken an Milz und Leber.

1) Siehe Anmerkung 2 auf S. 107.
2) Siehe Anmerkung 2 auf S. 108.
3) Siehe Anmerkung 3 auf S. 108.

Digitized by Google

Ausserdem untersuchte Ogata sechs der an Pest erlegenen Hausratten und constatirte allgemeine Veränderungen.

Wilm[1]) constatirt die Empfänglichkeit für Pest an Ratten, Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen, Affen, Schweinen und Hühnern, nur geringe Empfänglichkeit an Katzen und Unempfänglichkeit gegen subcutane Injection an Tauben.

Nach Kolle[2]) erliegen die Thiere innerhalb einiger Tage, wenn minimale Mengen einer frischen starken Cultur zur Anwendung gebracht werden, oder rascher, wenn die Cultur intraperitoneal oder intravasculär eingespritzt wird. In diesem Falle zeigen nur die benachbarten Lymphdrüsen leichte Anschwellung. Wenn man dagegen wenig virulente Cultur zur Infection benutzt, so entsteht bei Ratten und Meerschweinchen ein der menschlichen Beulenpest völlig analoges Krankheitsbild, und Tod folgt im Laufe der zweiten Woche. Bei der Obduction finden sich dann eine oder auch mehrere, bis zur Walnussgrösse geschwollene Drüsen mit Hämorrhagien und rahmigem Eiter. Bei Mäusen ist es ihm nicht gelungen, typische Bubonen zu erzeugen.

Von Abel[3]) wurden 7 Thiere (Meerschweinchen, Haus- und Feldmäuse) geimpft. Bei der Section ergab sich ausgedehntes Oedem mit Fibrinexsudat an der Impfstelle. Sehr reichliche Eiteransammlung in der Bauchhöhle und Hämorrhagien der Bauchorgane zeigen die intraperitoneal injicirten Thiere. Bei den subcutan geimpften Thieren waren die benachbarten Lymphdrüsen stark, die entfernteren nicht oder leicht geschwollen. Eine eitrige Schmelzung wurde nur einmal beobachtet. Ausserdem fand er geringe Vergrösserung, fast stets entwickelte gelb-graue miliare Herdchen in grosser Zahl in der Milz und Leber.

Von den umfangreichen Thierexperimenten von der deutschen Pestcommission schliesse ich zunächst deren Schlussfolgerung an:

1) Siehe Anmerkung 3 auf S. 110.

2) Siehe Anmerkung 6 auf S. 108.

3) Siehe Anmerkung 7 auf S. 108.

Digitized by Google

»Aus den mitgetheilten Versuchen ergibt sich, dass sämmtliche überhaupt untersuchten Species der Nagethiere für Pest empfänglich sind, doch in verschiedenem Grade. An der Spitze stehen die Ratten, weniger empfänglich sind in absteigender Reihe Mäuse, Ichneumons, Eichhörnchen, Kaninchen und Meerschweinchen.« »Wenn wir auf die hier beschriebenen Thierversuche einen zusammenfassenden Rückblick werfen, so ergibt sich, dass die Nager gegen die pathogene Wirkung der Pestbacillen den geringsten Grad von Widerstandsfähigkeit besitzen. Unter ihnen steht nach dieser Richtung die Ratte obenan. Fast ebenso empfänglich erweist sich der graue Affe. Viel weniger für Pest disponirt erweisen sich die Wiederkäuer, Pferde, Rinder, Schafe und Ziegen.« »Sehr wenig reagirten selbst auf grosse Dosen Hunde und Katzen, fast gar nicht Schweine.

Hinsichtlich des Sectionsbefundes möchte ich nur Folgendes erwähnen:

Die durch einfache Impfung gestorbenen Ratten zeigen Anschwellung der zunächst gelegenen Lymphdrüsen in ein ödematöses, hämorrhagisch durchtränktes Gewebe eingebettet und von erstaunlichen Mengen von Pestbacillen durchsetzt. Die entfernteren Drüsen sind in leichtem Grade geröthet und geschwollen. Milz ist stark vergrössert, schwarzroth und enthält enorme Mengen von Bacillen. Lunge und Leber sind stark hyperämisch.

Die durch Infection per os gestorbenen Ratten zeigten Drüsenanschwellung am Halse und das Bild der echten Septicämie, oft auch Aspirationspneumonie.

Meerschweinchen: Käsig aussehende, hämorrhagische Infiltration an der Inoculationsstelle, Bubonen, Anschwellung und Entwickelung zahlloser, kleiner, fast miliarer, gelber Knötchen in der Milz, zahlreiche gelbe punktförmige Nekrosen in der Leber, hirsekorngrosse derbe Herde mit hyperämischer Randzone und gelbem Centrum in der Lunge; grosse Mengen von Pestbacillen in dem Bubo, in der Milz und den Lungenknoten. In den Milzknötchen sind die Bacillenmassen in ein kleinzelliges Infiltrat eingelagert.

Digitized by Google

Affe, sog. Macacus radiatus: Bei der subcutanen Infection: Ausgedehntes, sulziges Oedem an der Impfstelle, starke Anschwellung der Milz, Petechien in der Magen- und Dickdarmschleimhaut.

Bei der intraperitonealen Injection: Blutige Durchtränkung an der Stichstelle, geringe Flüssigkeit in Bauchhöhle, starke Injection des Darmes, grosse Anschwellung der Milz, seröse Flüssigkeit in Pleurahöhle, fehlen der Drüsenanschwellung, zahlreiche Bacillen in Milz, Lunge und Peritonealexsudat.

Bei der Infection per os: Das Fehlen der Halsdrüsenanschwellung, Hämorrhagien und Hyperämie in der Magen-Darmschleimhaut, Blutung im Ligamentum hepatoduodenale und typische Anschwellung der Milz mit massenhaften Bacillen.

Ausser obigen Experimenten wurden auch im Interesse der Immunisirung und Serotherapie eine Reihe von Versuchen ausgeführt, welche ich hier nicht anführen will.

Alle oben erwähnten Arbeiten, die in der neueren Literatur über unseren Gegenstand vorliegen, stammen von Bacteriologen.

Die Folge davon war, dass in diesen Arbeiten hauptsächlich nur die Empfänglichkeit der Thiere für Pest und deren grob anatomischen Veränderungen klar gelegt wurden.

Die genauen und exacten Untersuchungen über anatomische und zwar histologische Veränderungen der experimentellen Pest verdanken wir den Arbeiten von Babes[1]), Honl[2]), Stricht[3]) und Lustig-Zardo[4]). Sie führten ihre histologischen Untersuchungen an den Organen der an Pest gestorbenen Meer-

1) Babes, V. und Livadite, C., Ueber einige, durch den Pestbacillus verursachte histologische Veränderungen. Virchow's Archiv, Bd. CL, S. 343.

2) Honl, J., Pestis bubonica. (Aus dem pathol. und bacteriol. Institut des Prof. Dr. Hlawa, Prag.) Casopis lék. Česk., 1897, März. Autoreferat: Centralblatt für allg. Path. und path. Anatomie, Bd. IX, Nr. 5, S. 188.

3) Van der Stricht, Lesions anatomo-pathologiques produites por le microbe de la peste. (Extrait du Bulletin de l'Académie royale de médicine de Belgique, Séance du 27 Mars 1897. Referat: Centralblatt für allg. Path. und path. Anatomie, Bd. IX, Nr. 10, S. 415.

4) Lustig-Zardo, Beitrag zum Studium der feineren Gewebsveränderungen bei der experimentellen Beulenpest. Centralblatt für allg. Path. und path. Anatomie, Nr. 8, 1897.

Digitized by Google

schweinchen, Mäusen, Ratten und Kaninchen aus und constatirten fast übereinstimmend den raschen Tod mit geringen Veränderungen bei starker Injection und den langsameren Tod mit hervorragenden Erscheinungen, der Entzündung an der Impfstelle und in den Lymphdrüsen, starke Blutfüllung eventuell Hämorrhagien der verschiedenen Gewebstheile, Trübung und fettige Degeneration der parenchymatösen Organe, oftmaliges Vorkommen der Peritoniits, Verbreitung der Pestbacillen in den verschiedenen Theilen bei schwacher Impfung.

Bei eingehender Betrachtung der Einzelheiten finden sich jedoch auch hier zahlreiche Abweichungen und Auseinandergehen der Meinungen.

Van der Stricht[1]) fand bei acut verlaufenem Falle an der Impfstelle ein sulziges Oedem und blutige Extravasation und bei langsam verlaufenem Falle Eiterung und Nekrotisirung.

Babes[2]) constatirte bei einem Meerschweinchen die Bildung eines Abscesses, welcher aber eigenthümlich wenige, zellige Elemente beherbergt und hauptsächlich einer Nekrose des Gewebes und einem Zerfall der zelligen Elemente, sowie des Fettgewebes seinen Ursprung verdankt.

Bei der Lymphdrüse findet man ausser den Anschwellungen und den Hämorrhagien das massenhafte Vorkommen des Pestbacillus, die Veränderungen einfacher bis zu ausgesprochen eitriger Entzündung. Zahlreiche Rupturen der Capillaren und grösseren Gefässe, fettige Degeneration der Capillarendothelien (van der Stricht), die Wucherungsprocesse, die auf die Umgebung und Kapseln der Drüse übergreifen, viele Mitosen und später Entartung im Keimcentrum (Babes), Proliferation der Leukocyten, Vorkommen der karyokinetischen und amitotischen Zellformen und der Phagocyten, auffallende Entwickelung der Mastzellen, Nekrose (Lustig-Zardo).

Was die Veränderungen der Milz anbetrifft, so werden sie von sämmtlichen Autoren als charakteristisch für Pest hervorgehoben. Volumenverminderung der Malpighi'schen Körperchen, Dilatation,

1) Siehe Anmerkung 3 auf S. 139.
2) Siehe Anmerkung 1 auf S. 139.

Digitized by Google

Zerreissung und Hämorrhagien der Capillaren der Malpighi'schen Körperchen, Vergrösserung und seröse Infiltration des Parenchyms, Entwickelung der Megakoryocyten, wesentliche Verringerung der Phagocyten mit Pigmentgranulationen, Anfüllen der amorphen Flüssigkeit und der Bacillenhaufen in den central gelegenen venösen Capillaren, Eiterherdbildung der zuletzt erwähnten Bacillenhaufen — für unbewaffnete Augen sichtbare, kleine weisse Herde — und Infiltration wie Vereiterung der Kapsel (van der Stricht); Entwickelung der zahlreichen, tuberkelähnlichen Knötchen — sog. Pestgranula von Honl —, histologisch: Vergrösserung der Follikel, bedeutende Anfüllung der Lymph- und Bluträume mit Blutkörperchen und mit besonderen homogenen Streifen oder runden Herden — Zooglöasubstanzen mit Bacillen — und um die letzteren herum liegende Bacterienverbreitung und Nekrotisirung (Honl); Wucherung der Kapselzellen, Entwickelung von zahlreichen Riesenzellen und von nekrotischen Herden mit Hämorrhagien (Babes); hyaline Degeneration der Trabekel, Erweiterung und Vergrösserung ihrer Arterien, Anfüllung der Bindegewebsmaschen mit Blutkörperchen, Hämorrhagien der Milzpulpa, nekrotische Herde in der Nähe der Follikel, reichliches Vorkommen des Bacillus im Milzgewebe und geringes Auftreten desselben in den Blutgefässen (Lustig-Zardo).

Leber: Ausser der fettigen Degeneration sind folgende nachgewiesen: vacuoläre Degeneration, kleine nekrotische Herde, welche durch Verstopfung der Capillaren mit Bacillen verursacht waren, gleiche Veränderungen des Gefässsystems wie bei der Milz (van der Stricht); Nekrosen mit einem Leukocytensaume und Zooglöagruppen (Honl); Nekrose und Riesenzellenentwickelung (Babes).

Niere: Abgesehen von fettiger Degeneration: catarrhalische Nephritis neben einer beginnenden interstitiellen Entzündung (van der Stricht), nur starke Hyperämie (Honl), blasse Cylinder in Sammelröhrchen und Eiweisskörnchen, wahrscheinlich Bacterien-Zerfallprodukte entsprechende, stark gefärbte Körnchen und körnige Stäbchen im Kapselraum (Babes), schwerere Veränderungen als bei anderen Organen, Nekrose in Glomeruli und

Digitized by Google

Harncanälchen, hyaline Verstopfung derselben, sehr seltenes Vorkommen des Bacillus in Parenchymen und Gefässen (Lustig-Zardo).

Nebenniere: Hyperämie und Hämorrhagie, Vermehrung der in Theilung begriffenen Drüsenzellen, Vermehrung des Fettgehalts der Zellen in der Rindensubstanz (van der Stricht), nur starke Hyperämie (Honl), körnige Degeneration (Lustig-Zardo).

Lunge: Hepatisation und reichliche kleine Infarcte, entzündliche Veränderung des interstitiellen Bindegewebes, deren Verbreitung auf Alveolen und darauf folgende lobuläre Pneumonie, angeschwollene Epithelien mit in Fettkügelchen umgewandelten Kernen (van der Stricht), Hyperämie und Hämorrhagien nebst pneumonischen Embolieherden, die sich durch centrale, in homogener Substanz eingelagerte Bacteriengruppen auszeichneten (Honl), nur geringe Veränderung — Desquamation der Alveolarepithelien, Haufen von Leukocyten, kleine hämorrhagische Herde (Babes).

Ausserdem wurden Magendarmkatarrh (im Darm stellenweise mit Nekrose der Epithelien) mit fettiger Degeneration der Muskelfasern und Vermehrung der normalen Elemente im Knochenmark von van der Stricht constatirt, dergleichen von Babes eigenthümliche vacuoläre Degeneration der Nervenzellen, Eindringen der Bacillen in diese, sowie das Vorkommen der Bacillen im Peritoneum, in das sie aus dem massenhaft von ihnen erfüllten Darm durch die nekrotisirte Mucosa hindurchdringen.

Soviel wird genügen, um den heutigen Stand unserer diesbezüglichen Kenntnisse über Pest klarzulegen, und um das Resultat meiner eigenen Untersuchungen anzuschliessen.

Eigene Thierversuche.

Da zur Zeit meiner experimentellen Untersuchungen nur noch einer der oben erwähnten 4 Pestbacillen-Stämme virulent war, wandte ich diese, von Klein stammenden Culturen zu meinem Versuch an.

Digitized by Google

Aus Versuchen, welche von Prof. Schottelius im Frühjahr 1898 zu dem Zwecke angestellt waren: die grössere oder geringere Empfänglichkeit der verschiedenen, zu Laboratoriums-Versuchen benutzten Thierarten gegenüber dem Pestbacillus festzustellen, hatte sich gezeigt, dass von allen in Frage kommenden Thieren die Ratten weitaus am meisten empfänglich sind. Unter den verschiedenen Arten der Ratten lässt sich aber wiederum eine grössere und geringere Empfänglichkeit constatiren, derart, dass die weissen Ratten empfänglicher sind als die wilden Arten — Haus- und Wanderratte —, und dass die grösste Empfänglichkeit selbst für schwach virulente Pestbacillen gewisse bunte Rattensorten zeigen, von denen hier eine grau gefleckte Art zu den nachfolgenden Experimenten benützt wurde.

8. VIII. 98. Eine junge Ratte starb am 3. Tage nach der subcutanen Einspritzung einer Aufschwemmungs-Cultur. An demselben Tage wurde ein kleines Stückchen des Unterhautgewebes der obengenannten gestorbenen Ratte einer grossen Ratte a und einer kleinen Ratte b in die Unterhaut eingeimpft.

Ferner wurde ein Stückchen der Milz von der ersten Ratte einer grossen Ratte c und einer kleinen Ratte d subcutan eingeimpft. Ratte b starb am 10. August nach 2 Tagen, Ratte a und d am 11. August nach 3 Tagen und Ratte c am 12. d. M. nach 4 Tagen.

10. VIII. 98. An 2 grossen und 7 kleinen Ratten wurde die Injection vorgenommen.

Einer Ratte e wurde eine eintägige Agarcultur, die von der Unterhaut der ersten Ratte isolirt wurde, Ratten f und g ein Stückchen der Milz von der Ratte b, Ratte h eine eintägige Agarcultur, die von der Milz der ersten Ratte isolirt wurde, Ratte i 9 ccm einer Mischung von eintägiger Bouillon und Agarcultur, die von der Unterhaut der ersten isolirt wurde, Ratte j ebenfalls 9 ccm der oben erwähnten Mischung und ein Stückchen des Unterhautgewebes und eine kleine Menge des Blutes von der Ratte b eingeimpft. Alle Impfungen wurden in die Unterhaut der Ratten ausgeführt.

Digitized by Google

Ratten e, h, i, j starben am 12. August nach 2 Tagen, Ratte g am 13. nach 3 Tagen und Ratte f am 15. nach 5 Tagen.

16. VIII. 98. Einer grossen Ratte κ wurde die Hälfte einer Agarcultur, die von der Leber der ersten Ratte isolirt wurde, und einer kleinen Ratte l 10 ccm der Bouilloncultur subcutan eingespritzt, die vom Herzblut der ersten Ratte isolirt wurde.

Ratte l starb am 18. August nach 2 Tagen.

16. VIII. 98. Einem grossen Meerschweinchen wurde eine Agarcultur, die von der Milz der ersten Ratte isolirt wurde, und einem kleinen jungen Meerschweinchen 10 ccm einer Bouilloncultur subcutan injicirt, die vom Herzblut der ersten Ratte isolirt wurde.

Diese beiden Meerschweinchen starben am 21. August nach 5 Tagen.

Ausserdem wurde noch eine ganze Reihe der Thierversuche vorgenommen, aber nicht zum Zwecke der pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchung gebraucht und wird deshalb hier nicht angegeben.

In Folgendem werden die Sectionsprotokolle mit mikroskopischen Untersuchungen der gestorbenen Thiere angegeben. Die Schnittpräparate habe ich theils mit Eosin-Hämatoxylin, um die Gewebsveränderung zu beobachten, theils mit Anilinwasserfuchsin gefärbt, mit 3proc. Essigsäure-Lösung entfärbt, durch welche guter Erfolg für Pestbacillen-Beobachtung erzielt wurde. Ausserdem habe ich verschiedene Färbungen nach Weigert und Gram angewendet.

Die makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen der oben erwähnten gestorbenen Versuchsthiere.

Ratte e.

8. VIII. 98. Impfung.

12. VIII. 98. Todt; sofort Section: An der Impfstelle der Bauchdecke befinden sich in der Unterhaut eine im Centrum nekrotische, an der Peripherie hyperämisch-hämorrhagische Infiltration, auf die ganze rechte Seite der Bauchdecke und den rechten Oberschenkel sich erstreckend. Rechte

Digitized by Google

Inguinalgegend sieht weisslich gelatinös aus (Oedem). Linke Inguinal- und Achseldrüsen sind bis zur Reiskorngrösse vergrössert und leicht hämorrhagisch; dagegen sind diejenigen auf der rechten Seite doppelt so gross als links angeschwollen und stark hämorrhagisch. Auf der rechten Seite ist die Unterhaut von der Brust bis zur oberen Extremität stark hyperämisch. Herz in diastolischem Zustand. Beide Lungen hyperämisch aber lufthaltig; am unteren Rand der linken Lunge findet sich ein diffuser grauer Herd, Milz stark angeschwollen, röthlich dunkel und weich; Leber ebenfalls. An der Oberfläche der Leber sind zahlreiche nadelspitzengrosse oder noch etwas grössere gelbliche Knötchen entwickelt. Das Grossnetz zeigt Hyperämie und Blutung. Uterus auch leicht hämorrhagisch. Beide Nieren blutreich.

Ausstrichpräparate. Herzblut: Mehrere, ungleichmässig gestaltete Bacillen. Hyperämische Stelle an der Peripherie der Impfstelle: Zahlreiche, ovale oder kurze wie etwas längere, schwach aber meist gleichmässig, selten im Centrum besonders schwächer gefärbte Stäbchen. Ausserdem zu Zweien auftretende, wenige Mikrococcen. Milz: Mehrere, kurz stäbchenförmige oder spitzig ovale, schwach gefärbte Bacillen. Leber: Wenige Bacillen, welche ebenso wie in der Milz gestaltet, aber deren einige lange Bacillenfäden bilden. Ueberhaupt findet man bei diesen Bacillen keine deutlichen Kapseln.

Mikroskopische Präparate. (Die mikroskopischen Veränderungen werden genau bei den Meerschweinchen beschrieben, bei welchen die Veränderungen sehr charakteristisch hervorgetreten sind. Deshalb werden die Beschreibungen der mikroskopischen Veränderungen bei den anderen Thieren oft verkürzt.)

Impfstelle: Dieselbe, aber etwas schwächere Veränderung wie beim grossen Meerschweinchen. Unter den Bacillen findet man ausser den typischen Pestbacillen noch andere Formen, d. h. schlanke und dicke Bacillen und Streptococcen Sehr spärliche Pestbacillen in den Blutgefässen.

Lymphdrüsen: Hochgradige subcapsuläre Blutung in der Rindensubstanz, eine starke Verdrängung und Verdichtung der rothen Blutkörperchen und daraus entstehende homogene Masse und noch andere fibrinöse Gerinnungsmasse in Blutgefässen. Herdweise auftretende, schwächere Färbung der Rindensubstanz an der concaven Fläche. Manchmal leichte periglanduläre Blutung. Bacillen findet man nur stellenweise in einer sehr spärlichen Anzahl in Blut und Lymphräumen.

Milz: Subcapsuläre Blutung; sonst keine besondere auffallende Veränderung wie bei Meerschweinchen.

Leber: Hochgradige, ausgedehnte, fettige Degeneration und subcapsuläre Blutung. Mehrere kleine, circumskripte, etwas diffus röthlich gefärbte Herde, in denen die Zellkerne stark geschrumpft und Protoplasma fettig zerfallen oder stark geschrumpft sind und Capillaren stark erweitert und mit Leukocyten erfüllt sind. Diese Herde färben sich mittels Weigert'scher Fibrinfärbung nicht besonders.

Niere: Hochgradige, parenchymatöse, fettige Degeneration zeigt sich hauptsächlich in den gewundenen Harnkanälchen. Subcapsuläre Blutung. Keine Bacillen in den Gefässen.

Digitized by Google

Herz: Muskel selber zeigt keine Veränderung; das Blut enthält keine Bacillen.

Lunge: Die Alveolen sind stellenweise auf kleine Strecke mit einer einfach serösen, oder leicht mit Leukocyten gemischten, serösen Flüssigkeit infiltrirt. Die Blutgefässe sind stark injicirt. Leicht ausgedehnte, subpleurale Blutung im Lungenparenchym. Die Pleurafläche ist mit fibrinös-blutigem Belag bedeckt.

Mittels Gram'scher Färbung werden Impfstelle, beide Lymphdrüsen, Milz und Lunge behandelt.

An der Impfstelle finden sich in grosser Ausdehnung sehr zahlreiche, tief blau gefärbte Streptococcen und zweierlei Bacillen (grosse und kleine) mit abgerundeten Enden. In den übrigen Organen findet man gefärbte Bacterien weder in Gefässen noch in Geweben.

Wichtige Befunde:

1. Nekrose und sulzig-fibrinöses, entzündliches Oedem an der Impfstelle. (Mischinfection durch andere Bacterien.)

2. Hämorrhagie und leichte Nekrose, Entwickelung der fibrinösen Massen in Gefässen der Lymphdrüse; geringes Auftreten der Pestbacillen in deren Gefässen und Lymphräumen.

3. Anschwellung und zellulare Hyperplasie der Milz; Auftreten einer spärlichen Anzahl des Bacillus.

4. Multiple Herdnekrose mit Leukocyten-Ansammlung in der Leber; spärliches Auftreten des Bacillus.

5. Parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere.

6. Leichte pneumonische Infiltration der Lunge.

7. Hämorrhagien in den verschiedenen Organen.

Ratte e.

10. VIII. 98. Impfung.

12. VIII. 98. Todt; sofort Section: An der Impfstelle (etwas rechts von der Mittellinie) der Bauchdecke zeigt die Unterhaut eine circumskripte gelbliche, sulzige Nekrose, welche von einer starken Hyperämie und Blutung umgeben ist und sich mit rechtsseitiger, stark angeschwollener und hämorrhagischer Inguinaldrüse dicht verbindet. Aber diese Hyperämie und Blutung sind nicht stark ausgedehnt. Linke Inguinaldrüse auch angeschwollen; beiderseitige Achseldrüsen ebenfalls und theils mit Blutung. Herz diastolisch. Beide Lungen hyperämisch. Milz stark angeschwollen, tief dunkel und weich. Leber hyperämisch und angeschwollen; zahlreiche, nadelspitzgrosse, gelbe Knötchen an der Oberfläche. Das grosse Netz blutreich, beide Nieren ebenfalls.

Ausstrichpräparate. Gelblich nekrotische Stelle der Unterhaut: Zahlreiche, dicke, ovale oder lange, unregelmässig gestaltete, im Centrum oder auch im Mittelstück schwächer gefärbte Bacillen. Ausserdem noch kleinere, kurze, spitzige Stäbchen; es ist fraglich, ob dieselben wirklich Pestbacillen oder andere darstellen. Herzblut: Mehrere dicke Stäbchen; Milz ebenfalls. Leber: Einige unregelmässig gestaltete Stäbchen.

Digitized by Google

Mikroskopische Präparate. Impfstelle: Es zeigt hier im Unterhautgewebe einen mehr circumskripten, von meistens polynucleären Leukocyten stark infiltrirten, theils schon nekrotisch gewordenen Herd, in dessen Mitte nur schwach gefärbte Bacillen mit Leukocyten vertreten sind, welche geschrumpfte Kerne enthalten. Dagegen findet sich am Rand dieses Herdes eine diffuse, gut gefärbte Bacillenmasse nach der Umgebung hineindringend. In der Umgebung dieses Herdes findet man bis auf die weitere Strecke stark erweiterte Blut- und Lymphgefässe, deren letztere meist mit langen plexusförmigen Bacillen voll und dicht gefüllt, und deren Umgebung mit zahlreichen Leukocyten infiltrirt sind. In den Blutgefässen sind keine Bacillen enthalten. Man sieht auch oft stark erweiterte Lymphgefässe, in denen gar keine oder sehr spärliche Bacillen vorhanden sind Nach Gram erweisen sich die Bacillen als vollkommen entfärbt; aber sonst befinden sich darin zahlreiche Colonien und Gruppen von tief blau gefärbten Streptococcen. Spärliche Streptococcen in den Gefässen.

Lymphdrüse: Keine nennenswerthe Veränderung im Gewebe; Bacillen befinden sich in mehrerer Anzahl in stark erweiterten Lymphsinus und Follikeln. Nach Gram weisen sie keine gefärbten Mikroorganismen auf.

Milz: Ausgedehnte subcapsuläre Blutung. Keine nennenswerthen Veränderungen des Gewebes selbst. Sehr spärliche Anzahl des Bacillus in den Gefässen und im Canalsystem der Pulpa, so dass man in einem Präparat kaum einige Bacillen findet.

Leber: Ebenso hochgradige subcapsuläre Blutung und ausgedehnte fettige Degeneration. Hauptsächlich an der Oberfläche findet man viele circumskripte, kleine mit geschrumpften Kernen durchsetzte Herde, in welchen die Leberzellen stark zerfallen und von Leukocyten durchsetzt, aber keine Bacillen vorhanden sind. Diese Herde zeigen mittels Weigert'scher Fibrinfärbung keine positive Reaction. Ueberhaupt keine Bacillen in der Leber.

Niere: Hochgradige Trübung und Verfettung der Rindensubstanz, starke subcapsuläre Blutung. Nur einige Exemplare des Bacillus im Kapselraum der Glomeruli und im Blutgefäss.

Lunge: Starke, ausgedehnte, subcapsuläre und auch einige parenchymatöse Blutungen und seröse Infiltrationsherde. Aber keine Bacillen.

Herz: Zahlreiche, kleine hämorrhagische Herde in der Muskelsubstanz. Keine Bacillen und Coccen im Blut selbst; ebenso in Gram's Präparat.

Wichtige Befunde:

1. Fibrinös-nekrotische Entzündung an der Impfstelle. Mischinfection mit Streptococcen.
2. Lymphdrüsenanschwellung mit mehreren Pestbacillen.
3. Milzanschwellung mit sehr spärlichen Bacillen.
4. Multiple Herdnekrose der Leberzellen; Auftreten einer spärlichen Anzahl des Bacillus.
5. Auftreten einer verschwindenden Anzahl des Bacillus in der Niere.
6. Parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere.
7. Lungenödem.
8. Hämorrhagien an den verschiedenen Organen.

Digitized by Google

Ratte i.

10. VIII. 98. Impfung.

12. VIII. 98. Todt.

13. VIII. 98. Morgens Section: Von der Impfstelle der Bauchdecke nach oben bis zum unteren Theil der Brust und nach unten bis zum unteren Ende der Bauchdecke sich erstreckend, zeigt sich eine lange, 0,8 cm breite, gelblich sulzige, ödematöse Masse im Unterhautgewebe; Hyperämie und Blutung sind jedoch hier nicht deutlich ausgesprochen. Lymphdrüsen in der Inguinal- und Achselgegend sind angeschwollen, zeigen aber keine Blutung. Herzventrikel sind contrahirt, aber Vorhöfe diastolisch und mit Blut gefüllt. Lungen aufgebläht; an einigen Stellen der beiden Lungen zeigt sich eine circumskripte rothe Hepatisation. Milz stark angeschwollen und dunkelroth. Leber ebenfalls angeschwollen. An den meisten Stellen der Oberfläche finden sich zahlreiche, ganz kleine, nadelspitzgrosse, gelbliche Knötchen. Beide Nieren frei.

Ausstrichpräparate. Gelbliche Masse im Unterhautgewebe: Zahlreiche ovale oder oval-bläschenförmige, auch kurze Bacillen, welche in der Mitte ganz schwach gefärbt sind; sonst etwas dickere, lange und auch kleinere spitzige Bacillen. Herzblut: Viele ovale oder kurze Bacillen. Milz: Mehrere kurze oder lange, dicke, theils regelmässig, theils unregelmässig gestaltete Bacillen. Leber: Ebenso wie bei der Milz; aber mehrere lange, in Ketten auftretende Bacillenfäden.

Mikroskopische Präparate. Impfstelle: Nekrotisirung mit einer peripherischen Leukocyteninfiltration. Zahlreiche Pestbacillen im betreffenden Herde, besonders reichlich an der Peripherie; manchmal weit von der Peripherie in die Tiefe des Unterhautgewebes sich erstreckend. Ausserdem finden sich noch in grosser Anzahl eine andere Art von Bacillen, schlanke und lange Bacillen, mit Pestbacillen gemischt. Nach Gram sind ziemlich zahlreiche schlanke, kurze, oft zu zweien oder auch zu mehreren auftretende spitzige Bacillen zu sehen, die in viel geringerer Anzahl vertreten sind als Pestbacillen.

Lymphdrüse: In der Rindensubstanz, besonders direct unterhalb der Kapseln, färbt sich das Gewebe schwächer und kernärmer und diffus röthlich in einer dicken oder dünnen Strecke, aber fast die ganze Lymphdrüse umkreisend. Die meisten Kerne hier sind geschrumpft oder haben ihre Färbbarkeit verloren. Hier findet man sonst herdweise localisirte homogene Massen, die durch starke Vergrösserung als reine Bacillencolonien nachgewiesen werden. Ausserdem befinden sich in diesem nekrotischen Herd überall sehr zahlreiche Bacillen; etwas weniger, doch überall sind sie ebenso auch in den übrigen Theilen aufzufinden. Sie sind oft mit anderen schlanken Bacillen vergesellschaftet und meistens in dem Lymphsinus. Im Blutgefäss finden sich auch viele Pestbacillen. Lymphsinus und Blutgefässe sind sehr oft von einer fibrinösen geronnenen Masse verstopft, besonders deutlich im nekrotischen Herd. In dieser Masse befinden sich mehrere Pestbacillen. Nach Gram findet man die oben genannten Bacillen in reichlicher Anzahl in den nekrotischen Herden und in spärlicher Zahl in den übrigen Theilen der Lymphdrüse tief blau gefärbt.

Digitized by Google

Milz: Ausgedehnte, subcapsuläre Blutung. Ziemlich reichliche Bacillen im Canalsystem und in den Blutgefässen der Pulpasubstanz. Nach Gram färben sich die Bacillen weder in Gefässen noch im Gewebe selber.

Leber: Leichte subcapsuläre Blutung und ebenso leichte, aber ausgedehnte parenchymatöse Degeneration. Hie und da findet man mehrere, etwas röthlich diffus gefärbte, kernreiche, mehr circumskripte, kleine Herde, in denen das Protoplasma der Leberzellen fettig zerfallen oder stark geschrumpft, Zellkerne ebenso geschrumpft und die Capillaren stark erweitert sind. Hier befindet sich noch eine Infiltration der Leukocyten. Mittels Weigert'scher Fibrinfärbung sind tief blau gefärbte, feine, umsponnene Netzwerke nachzuweisen. Das hier vorhandene Protoplasma zeigt sich als durch diese Färbung tief blau gefärbte Fäserchen. In den erweiterten Capillaren findet man fast überall eine grosse Anzahl des typischen Pestbacillus; dagegen sind sie in grossen Blutgefässen nicht zu finden. Nach Gram färben sich die Bacillen nicht.

Niere: Leichte, extracapsuläre Blutung, hochgradige trübe Schwellung und fettige Degeneration. Pestbacillen finden sich nur stellenweise in geringer Anzahl in den Capillaren. Nach Gram sind keine Bacillen nachweisbar.

Lunge: Ist nur an einigen Stellen pneumonisch infiltrirt. In diesen infiltrirten Herden findet man hie und da mehrere Pestbacillen in den Alveolen; sonst keine in der Lunge. Keine gefärbten Bacillen nach Gram.

Herzblut: Muskel selbst zeigt keine Veränderungen; im Blut findet man weder bei gewöhnlicher noch nach Gram'scher Färbung Bacillen.

Wichtige Befunde:

1. Entzündung und Nekrose an der Impfstelle, ohne deutliche Blutung. (Mischinfection mit anderen Bacillen.)

2. Bacillen-Metastase und Nekrotisirung der Lymphdrüse; verbreitetes Auftreten des Pestbacillus im Gewebe; mit geringer Mischung eines anderen Bacillus.

3. Milzanschwellung.

4. Multiple Herdnekrose der Leberzellen (mit positiver Farbenreaction durch Fibrinnachweis).

5. Parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere.

6. Reichliches Auftreten des Pestbacillus in den Capillaren der Milz, Leber und Niere.

7. Pneumonische Infiltration mit Bacillen in der Lunge.

8. Allgemeine Hämorrhagien.

Ratte I.

16. VIII. 98. Impfung.

19. VIII. 98. Morgens todt; 12 Uhr Section: In der Unterhaut der linken Seite der Bauchdecke befindet sich eine 1 cm breite und 2 cm lange gelbliche, ödematös-entzündliche, nekrotische Masse, welche keine Blutung zeigt und deren Umgebung keine deutliche Hyperämie aufweist. Achseldrüsen sind beinahe reiskorngross angeschwollen, zeigen aber keine Blutung. Inguinaldrüsen sind auch angeschwollen, besonders auf der linken Seite.

Digitized by Google

Herz gefüllt. Beide Lungen blutreich. Milz sehr stark angeschwollen, blutreich und weich. Leber auch sehr weich und blutreich. Beide Nieren prall, blutreich und zeigen eine Trübung der Rindensubstanz.

Ausstrichpräparate. Nekrotische Stelle der Unterhaut: Zahlreiche ziemlich lange, seltener kurze, central schwach gefärbte Bacillen. Milz: Wenige klumpige, coccenähnliche Bacillen. Leber: Nur einige Bacillen. Herz: Keine Bacillen. Die reinen Colonien des Pestbacillus entwickelten sich auf Agar-Nährböden, auf welche der Gewebssaft der Milz und der Unterhaut ausgestrichen wurde. Mit Gewebssaft der Leber und mit Herzblut bestrichene Agarnährböden blieben frei von Colonien.

Mikroskopische Präparate. Impfstelle: An einer Stelle des Unterhautzellgewebes in der Umgebung der Lymphdrüse findet sich ein mehr circumskripter, schwach diffus gefärbter, theilweise mit einem fibrinösen Exsudat durchsetzter Herd, in welchem ziemlich viele Pestbacillen vorhanden sind. Ausserdem befinden sich im subcutanen Fettgewebe zwischen den Zellen hie und da zerstreute oder gruppenweise Pestbacillen. Hier sieht man in den Blutgefässen auch fibrinöse Gerinnsel, die mehrere Pestbacillen enthalten. Keine positiv färbbaren Bacillen nach Gram.

Lymphdrüse: Capsuläre Blutung. In der Substanz selber befinden sich stellenweise mehrere Pestbacillen in den intercellularen Räumen. Das neben der Lymphdrüse liegende Ovarium zeigt an der Kapsel eine fibrinös-zellige Exsudation. Die Substanz des Ovariums selbst ist auch besonders an der Oberfläche mit fibrinösen Balken durchsetzt, zwischen denen sich spärliche Pestbacillen befinden. Nach Gram färben sich die Bacillen nicht.

Milz: Ausgedehnte subcapsuläre Blutung. Sonst keine nennenswerthen Veränderungen. Keine Pestbacillen und ebenso keine nach Gram färbbaren Bacillen.

Leber: Ausgedehnte subcapsuläre Blutung, Gefässerweiterung in der Lebersubstanz, fibrinöse Massen im Blut mehrerer grosser Gefässe, trübe Schwellung und fettige Degeneration der Leberzellen. Ausserdem finden sich in der Lebersubstanz mehrere kleine, circumskripte, diffus röthlich gefärbte Herde mit zahlreichen geschrumpften Kernen. Die Leberzellen sind hier entweder stark geschrumpft oder unregelmässig aufgequollen; deren Kerne ebenfalls geschrumpft und deren Protoplasma nur schwach diffus gefärbt. Die dazwischen liegenden Capillaren sind mit Leukocyten angefüllt. Mittels der Weigert'schen Fibrinfärbung sind diese Herde tief blau gefärbt, mit blau gefärbten Fasern dicht durchsetzt. Eine andere Reihe dieser Herde, die kleiner sind, färben sich nicht blau und stellen sich als ein junges Stadium der vorigen Herde dar. Sonst färben sich mittels der Weigert'schen Fibrinfärbung die Fibringerinnsel in grossen Gefässen und in den Exsudatmassen der subcapsulären, hämorrhagischen Herde; aber sog. fibrinöse Massen in Gefässen zeigen keine positive Färbung durch diese Methode. Die Pestbacillen befinden sich weder in grossen Gefässen noch in Capillaren; ebenfalls keine Mikroorganismen in Gram'schen Präparaten.

Niere: Ziemlich starke trübe Schwellung und fettige Degeneration der gewundenen Harncanälchen; subcapsuläre Blutung. Keine Mikroorganismen.

Digitized by Google

Nebenniere: Leichte capilläre und subcapsuläre Blutung, sowie Anfüllung der meisten Gefässe mit fibrinöser Masse. Keine Bacterien. Mittels der Weigert'schen Fibrinfärbung ist eine blau gefärbte Fibrinmasse in Gefässen und auch stellenweise in der Rindensubstanz im unfiltrirten Zustand nachweisbar.

Herzblut: Nur mehrere kleine, hämorrhagische Herde im Herzfleisch. Das Blut selbst enthält keine Mikroorganismen.

Lunge: Subpleurale Blutung im Lungenparenchym; sich herdweise ausbreitende Oedeme, d. h. Füllung der Lungenalveolen mit einer serösen Flüssigkeit mit einer geringen Beimengung von rothen und weissen Blutkörperchen. Starke seröse Durchtränkung des perivasculären Bindegewebes. Keine Pestbacillen.

Wichtige Befunde:

1. Nekrotische Entzündung ohne Blutung an der Impfstelle; fibrinöse Massen mit Pestbacillen in Gefässen.

2. Lymphdrüsenanschwellung mit geringer Anzahl des Pestbacillus.

3. Milzanschwellung.

4. Einige Exemplare des Pestbacillus in Ausstrichpräparaten von der Leber und Milz; aber keine Bacillen in Schnittpräparaten; ebenfalls keine Bacillen in der Niere.

5. Multiple Herdnekrose der Leberzellen in zwei verschiedenen Stadien, die durch die Weigert'sche Fibrinfärbung nachweisbar sind.

6. Fibrinöse Massen in Gefässen der Leber.

7. Lungenödem; Bacillen in der Lunge.

8. Allgemeine Hämorrhagien.

Grosses Meerschweinchen a.

16. VIII. 98. Impfung.

21. VIII. 98. Morgens todt; vormittags Section: An der Impfstelle zeigt sich in der Unterhaut eine 3 cm breite und 5 cm lange, grau-gelbliche, sulzige, ödematös aufgequollene, nekrotische Masse. Die übrigen Theile der Bauchdecke sind in der Unterhaut bis zu den oberen und unteren Extremitäten stark ödematös angeschwollen. Von den beiderseitigen Inguinaldrüsen sind sie fast erbsengrosse, zwei zusammenliegend, angeschwollen. Beiderseitige Axillardrüsen linsengross und Halsdrüsen ebenfalls reiskorngross angeschwollen. Herz gefüllt. Beide Lungen lufthaltig, blutreich; am hinteren Rande der beiden Lungen finden sich einige, etwas grosse hämorrhagische Herde. In der Bauchhöhle findet sich ein reichliches trübes Exsudat. Die Oberfläche der Leber und Milz ist mit einem fibrinösen Belag bedeckt. Milz stark angeschwollen; an der Oberfläche sind zahlreiche, gelbliche Miliarknötchen entwickelt. Leber auch angeschwollen und blutreich, mit zahlreichen, nadelspitzgrossen Knötchen locker durchsetzt. Beide Nieren angeschwollen, blass, und zeigen sich stark getrübt. Linke Niere zeigt einen hämorrhagischen Fleck.

Ausstrichpräparate:

1. Impfstelle, d. h. Subcutis: Viele kurze, oft in der Mitte, aber selten im Centrum ungefärbte Bacillen mit abgerundeten Enden und ohne Kapseln.

Digitized by Google

2. Milz: Sehr zahlreiche dicke, lange oder kurze, oft in der Mitte ungefärbte Bacillen mit abgerundeten Enden und ohne Kapseln; manchmal grosse und unregelmässig gestaltete Bacillen.

3. Herzblut: Mehrere kleine, kurze, oft in der Mitte ungefärbte, selten bläschenförmige Bacterien ohne Kapseln.

4. Leber: Ungeheuere Menge von meistens unregelmässig oval geformten Bacillen; richtige Stäbchenform relativ selten.

Mikroskopische Präparate. Impfstelle: Das Unterhautzellgewebe ist in seiner ganzen Tiefe mit den dicht oder locker angesammelten Leukocyten — meist polynucleären, wenig mononucleären — und einem serösfibrinösen Exsudat stark durchsetzt. Das Exsudat tritt dort besonders auffallend hervor, wo Leukocyten locker angefüllt sind. Ein solches mehr serofibrinöses Exsudat findet man hauptsächlich in der Mittelzone des Unterhautgewebes, wo das Gewebe sich schon stellenweise ungefärbt erweist (Nekrose). In der Infiltration sind die rothen Blutkörperchen in geringer Anzahl gemischt. Diese Infiltration reicht bis zur Grenze der Muskelzone, doch weist letztere starke Injection der Gefässe und stellenweise eine leichte Infiltration auf. Sowohl an der Grenze zwischen dem Unterhautzellgewebe und der Muskelschicht, als auch unterhalb der Papillen befindet sich eine diffus gefärbte Masse, welche oft tief nach unten in die Muskelschicht eindringt. Sie stellt nichts anderes als die gruppirten Bacterienmassen mit Zoogloea dar. Ausserdem finden sich die Bacterien in einer grossen Anzahl zwischen den Leukocyten im serofibrinösen Exsudat. Das Peritoneum in der Umgebung der Impfstelle ist mit einem serofibrinösen Exsudat dünn bedeckt, in welchem eine geringe Anzahl der Bacillen eingeschlossen sind. Die Endothelzellen des Peritoneums sind gewuchert. Von der Impfstelle ab peripherwärts nimmt dieser Infiltrationsherd in seiner Dicke ab. Die meisten Mikroorganismen sind rundlich oder oval gestaltet; im ersteren Falle sind sie bläschenförmig, im letzteren dagegen sind die beiden Pole des Bacillenleibes gewöhnlich dicker gefärbt als die beiden Seiten desselben. Seltener zeigen die Bacillen eine kurze Stäbchenform mit abgerundeten Enden, welche oft an den beiden Enden tief und in der Mitte schwach oder gar nicht gefärbt ist. Im Blut der durchschnittenen Gefässe finden sich wenig Bacterien, während sie in den Lymphgefässen zahlreich vorkommen. Die Bacterien localisiren sich meist frei im Plasma und zeigen sich bläschenförmig.

Lymphdrüsen: Es werden theils die Lymphdrüsen in directer Nähe der Impfstelle — die Inguinaldrüsen —, theils die entfernter gelegenen Achseldrüsen untersucht. Diese Lymphdrüsen zeigen, je nach dem näheren oder entfernteren Ort, eine gewisse Verschiedenheit im Grade der Veränderung. Inguinaldrüse: Das periglanduläre Gewebe hochgradig serofibrinös infiltrirt und die Gefässe stark injicirt. Ausserhalb der Drüse finden sich die mit schwacher Vergrösserung wahrnehmbaren, diffusen Bacillencolonien in den erweiterten Gewebsräumen, sie sind beschränkt auf die Convexfläche der Drüse, wo afferens zuführen. Als eine directe Fortsetzung dieser Masse findet sich ein grosser, fast das ganze Centrum der Lymphdrüse

Digitized by Google

einnehmender Bacillenherd, von dem die seitliche Marksubstanz und der Hilus freibleiben. Diese Bacillenmasse zeigt sich im Centrum locker, an der Peripherie hingegen dicht, und nach aussen bildet die Lymphsinus erfüllende Verzweigung oder vom grossen Herd ganz abgetrennt gelegene kleine Herde. An der Peripherie dieses Herdes findet man mehrere lange, strangförmige, rundliche oder faserige, theils grosse, theils kleine Fibrinpfröpfe, welche die Lymphsinus verstopfen. In diesem Herd finden sich stellenweise schwach gefärbte Partien (Nekrose), besonders im Centrum des ganzen Herdes. Gefäss- und Lymphräume am Hilus sind stark erweitert, in den ersteren finden sich sehr spärliche Bacillen, während sie in den letzteren ziemlich reichlich vorhanden sind. Hämorrhagien findet man weder extraglandulär noch intraglandulär. Betrachtet man mit Oel-Immersion, so findet man die Bacillen an der Peripherie des grossen Herdes strotzend in den Lymphsinus, so dass hier fast kein Gewebe mehr zu sehen ist. Ausserhalb dieses Herdes finden sich die Bacillen spärlich, aber ziemlich verbreitet in den Sinus. Reichlicher aber sind sie im convexen und seitlichen Theil der Rindensubstanz vorhanden. Die Bacillen färben sich an diesen beiden Stellen tief, während sie im Centrum schwach oder gar nicht gefärbt sind. Die Bacillen erreichen von den Sinus das Innere der Follikel. Im Centrum befinden sich die Bacillen nur stellenweise zahlreich. Die Organismen sind rundlich oder oval und bilden kurze oder ziemlich lange Bacterienkörper mit abgerundeten Enden. Manchmal zeigen sie eine parallel laufende, an Milzbrandbacillen erinnernde Form. Die Form der Bacillen zeigt keinen besonderen Unterschied nach dem Sitz derselben im Gewebe. Mittels der Weigert'schen Bacterienfärbung zeigt kein Mikroorganismus die positive Färbung und ebenso kein Bestandtheil des Gewebes; die hier vorhandenen fibrinösen Massen entfärben sich vollkommen.

Achseldrüse: Mit schwacher Vergrösserung bemerkt man nur eine starke Erweiterung, dichte Zellenerfüllung der Lymphsinus und einige kleine dichte Rundzellenansammlungen mit einem diffus gefärbten Centrum (Bacillencolonien). Mit Oel-Immersion findet man die Bacillen in einer grossen Anzahl in den von Zellen stark gefüllten Lymphsinus der Rindensubstanz. Fast keine Bacillen in den Follikeln. Die Marksubstanz ist gleichfalls, aber nur schwächer verändert wie die Rindensubstanz. In den stark erweiterten Gefässen am Hilus finden sich die Mikroorganismen in einer spärlichen Anzahl. Das periglanduläre Gewebe ist auch serofibrinös durchtränkt.

Milz: Die Malpighi'schen Körperchen verhalten sich normal, dagegen findet man in der Pulpa zahlreiche kleinere oder grössere, nekrotische Herde mit central gelegenen Bacillenmassen, sonst mannigfach gestaltete, geronnene, fibrinöse Pfröpfe in den erweiterten Gefässen und dem Canalsystem, in dem letzteren sind eine grosse Anzahl des Mikroorganismus enthalten. Mit Oel-Immersion findet man die Bacillen ausser den nekrotischen Herden in grösseren Colonien oder in grossen Haufen, sowie in kleinen Gruppen wie zerstreut in Canälen, auch nicht minder in den Follikeln, in deren manchen oft nur eine geringe Anzahl des Bacillus enthalten ist. Das Canalsystem ist mit den in Zoogloea eingeschlossenen Bacillenpfröpfen stark angefüllt. In

Digitized by Google

den Blutgefässen der Pulpa ist das Verhalten ein ähnliches. Die fibrinös geronnene Masse findet man in den Follikeln neben den Bacillenmassen oder um letztere herum; oft sieht man auch als eine Fortsetzung solcher geronnener Massen die gleichfalls beschaffenen fibrinösen Pfröpfe in den Gefässen oder Canalräumen. (Also stehen die Pfröpfe der Gewebssubstanz selber und diejenigen mit den Gefässen und Canalräumen in einer directen Verbindung.) Manchmal findet man gerade der Innenfläche des grossen Gefässes einen Bacillenherd anhaftend, um welchen herum mehr nach innen eine dicke fibrinöse Masse ins Innere der Höhle hervorragt (Bacterienthromben.) In den Malpighi'schen Körperchen findet man fast keine Bacillen. Die Gestalt des Bacillus ist ebenso verschieden wie in den Lymphdrüsen. Mittels der Weigert'schen Färbung weist nur der fibrinöse Belag an der Oberfläche der Milz tief blaue Färbung auf, sonst aber nirgends.

Leber: Mehrere kleine, diffus gefärbte Bacillenherde mit lockerer Leukocyten-Ansammlung im Parenchym. Die Leukocytenkerne zeigen sich hier oft geschrumpft oder zerfallen. Ausserdem befinden sich noch wenige, sich unregelmässig verbreitende, durch Hämatoxylin tief gefärbte nekrotische Herde, in welchen die Leberzellen in der ganzen Protoplasmamasse grosse oder kleine Vacuolen gebildet haben, und die übrigen Gerüste des Protoplasmas sehr tief gefärbt oder auch ganz zertrümmert aufweisen (acuter Zerfall der Leberzellen.) Dazwischen finden sich aber auch wenige, noch wohl erhaltene Zellen. In den genannten Herden sind keine Bacillen vorhanden. Daneben sieht man aber manchmal die Gefässe, welche von den fibrinösen, Bacillen enthaltenden Massen verstopft werden. In den grossen und kleinen Gefässen ist die fibrinös geronnene, mit Leukocyten gemischte, homogene oder faserige, immer eine grosse Anzahl des Bacillus eingeschlossene Masse wandständig oder frei von der Wand ins Blut entwickelt. Solche Massen sind nicht selten so gross, dass fast der ganze Gefässraum verstopft wird. Man sieht die Bacillenhaufen und dünnen fibrinösen Belag an der Wand der grossen Gefässe mit normalem Blut, in welchem selten die Bacillen zu finden sind. Durch die Weigert'sche Färbung sind nur wenige geronnene Faserstoffe in einigen Gefässen schwach blau gefärbt; die obengenannten fibrinösen Massen und Bacterien hingegen zeigen keine positive Reaction.

Nieren: Das perinephale Gewebe an der convexen Fläche ist stark hämorrhagisch infiltrirt und enthält reichliche Bacillen. An der concaven Fläche finden sich die, zahlreiche Bacillencolonien enthaltenden fibrinözelligen Beläge. Das Parenchym zeigt in der Rindensubstanz eine ziemlich hochgradige trübe Schwellung. Die Bowmann'schen Kapseln und die Räume der Harncanälchen sind öfters mit eiweissartigen, geronnenen Flocken gefüllt. In den Harncanälchen, besonders in den gewundenen, findet man zahlreiche, ganz schwach gefärbte, kleine, rundliche oder ovale, oft zu zweien auftretende Kügelchen, von denen die meisten zu zerstörtem Zellchromatin oder Harnsediment gehören. Darunter befinden sich sehr selten die bacillenähnlichen Körperchen, welche sich aber nicht scharf unterscheiden lassen. Ausserdem findet man keine Bacillen in den Nieren.

Digitized by Google

Nebenniere: Die Oberfläche ist stellenweise mit fibrinösem Belag bedeckt, welcher zahlreiche Pestbacillen enthält. Die Substanz zeigt keine besondere Veränderung; deren Gefässe und Capillaren enthalten keine Bacillen.

Herz: Muskel selbst zeigt keine Veränderung. Im Blut befinden sich mehrere kürzere oder längere, vereinzelte oder zu einigen gruppirte Bacillen, die nicht in Leukocyten eingeschlossen sind.

Lunge: Sie zeigt eine sich herdweise verbreitende, hämorrhagische oder seröse, auch etwas zellige, pneumonische Infiltration, welche keine typische Ausdehnung aufweist. Ausserdem sieht man dicht unter der Pleura eine starke Hämorrhagie, bei welcher stellenweise eine dichte zellige Infiltration stattfindet. Mit Oel-Immersion bemerkt man, dass die interalveolären Capillaren mit stellenweise gruppirten, langen Bacillen angefüllt, und dass namentlich in den infiltrirten Alveolarräumen der hämorrhagischen und zelligen, pneumonischen Herde sich eine grössere Anzahl dicht gruppirter Bacillen befinden. In den auf Schnitten quer getroffenen Bronchien sieht man einen das ganze Lumen verstopfenden Pfropf, der aus einer schleimigen Masse mit zahlreichen Bacillen besteht.

Darm: Auf der serösen Fläche des Darmes ist eine fibrinöse Auflagerung mit zahlreichen Bacillen entwickelt; in die Binnenräume derselben sind stellenweise rothe Blutkörperchen eingewandert. In diesen Räumen finden sich oft auch reichliche Bacillen, welche von Pestbacillen bzw. von Darmbacterien schwer zu unterscheiden sind. Die Mesenterialdrüse zeigt keine besondere Veränderung.

Mittels der Weigert'schen Fibrinfärbungsmethode wurden Leber, Nieren und Lymphdrüsen gefärbt; die bacillenhaltige fibrinöse Masse wird dabei nicht gefärbt, sondern sie zeigt sich nur diffus schwach blau.

Wichtige Befunde:

1. Ausgedehnte, nekrotisch-fibrinöse Entzündung; keine Mischinfection.
2. Lymphadenitis mit Metastasenbildung und hervorragender Bacillenverschleppung in den benachbarten Lymphdrüsen.
3. Lymphadenitis mit Bacillenverschleppung in den entfernt gelegenen Lymphdrüsen.
4. Milzanschwellung mit Metastasenbildung und auffallender Bacillenverschleppung.
5. Metastasenbildung und multiple Herdnekrose in der Leber mit auffallender Bacillenverschleppung.
6. Parenchymatöse Degeneration der Leber und der Niere.
7. Kein Auftreten des Bacillus in der Niere.
8. Pneumonische Herde mit Bacillen.
9. Bildung der eigenthümlichen fibrinösen Masse in Gefässen und Geweben.
10. Allgemeine Hämorrhagie.
11. Starke Peritonitis.

Digitized by Google

Kleines Meerschweinchen b.

16. VIII. 98. Impfung.

21. VIII. 98. 11 Uhr vormittags todt; gleich Section: An der Infectionsstelle der Bauchdecke findet man eine 3 cm breite, 4 cm lange, derbe, graugelbliche, sulzige, nekrotische Anschwellung des Unterhautgewebes; das subcutane Gewebe ist im allgemeinen mit sehr trübem gelblichen Saft (keinem Eiter) infiltrirt. Die Umgebung dieser Partie ist hyperämisch und die entfernteren Stellen stark ödematös. Inguinaldrüsen sind erbsengross angeschwollen; Achseldrüsen reiskorngross. Herz gefüllt. Beide Lungen blass, lufthaltig und zeigen einige kleine Blutungen. In der Bauchhöhle findet sich eine grosse Menge einer weisslich getrübten Flüssigkeit. Die Oberfläche der Leber und besonders der Milz ist mit einer dicken fibrinösen Membran bedeckt. Milz stark vergrössert, mit gelben Miliarknötchen durchsetzt. Leber sehr blutreich und angeschwollen. Beide Nieren angeschwollen und stark getrübt.

Ausstrichpräparate:

1. Impfstelle; nekrotische Stelle des Unterhautgewebes: Ungeheuere Menge von meistens langen, selten kurzen, und in der Mitte oder im Centrum schwach gefärbten, ovalen oder unregelmässig geformten Bacillen mit rundlichen Enden und ohne Kapseln.

2. Milz: Ungeheuere Menge von dicken, langen oder kurzen, meistens nur im Centrum schwach oder nicht gefärbten Bacillen, deren Enden oft spitzig oval, lanzettförmig sind. Es gibt aber viele ovale oder längere Bacillen. Keine Kapseln sichtbar.

3. Herzblut: Viele kurze oder lange, oft im Centrum oder auch in der Mitte schwach gefärbte Bacillen ohne Kapseln.

4. Leber: Zahlreiche Bacillen, welche mit Milzbacillen gleich beschaffen sind.

Mikroskopische Präparate. Impfstelle: Dieselben Veränderungen wie bei dem grossen Meerschweinchen. In den Blut- und Lymphgefässen befinden sich zahlreiche rundliche, kurze oder auch lange Bacillen, die nicht in Leukocyten eingeschlossen sind.

Inguinal- und Achseldrüsen: Sie zeigen auch beinahe mit denjenigen des grossen Meerschweinchens gleiche, aber nur etwas leichtere Veränderungen. Das periglanduläre Gewebe ist aber hämorrhagisch infiltrirt. In der Inguinaldrüse sind die Bacillenherde mehr verbreitet als bei dem grossen Meerschweinchen.

Milz: Sie zeigt hier noch hochgradigere Veränderungen als bei dem grossen Meerschweinchen, besonders zahlreiche nekrotische Herde mit Bacillenmassen.

Leber: Zeigt ähnliche Veränderungen wie bei dem grossen Meerschweinchen; aber hier befinden sich noch reichlichere fibrinöse Verstopfungen der Gefässe und zahlreichere eigenthümliche nekrotische Herde. In den intercellularen Capillaren der Acini findet man überall reichliche Bacillen, öfters strotzende Anfüllung mit Bacillenhaufen wie bei Milzbrand.

Digitized by Google

Der letztere Zustand äussert sich viel hochgradiger als bei dem grossen Meerschweinchen.

Niere: Das ganze Verhalten ist ebenso wie bei dem grossen Meerschweinchen. Trübung und Verfettung sind hochgradiger als bei dem letzteren. Selten finden sich geringe fibrinöse Massen mit Bacillen in den Gefässen. In den Harncanälchen sind bacillenähnliche oder körnchenförmige Sedimente sehr zahlreich. In den intertubulären Capillaren findet man überall eine Bacillenanhäufung, oft sehr stark. Auch in den Glomerulus findet man fast überall in den Gefässschlingen ziemlich zahlreiche Bacillen, aber in den Kapselräumen seltener, öfters gar nicht.

Nebenniere: Zeigt im Zellprotoplasma Trübung und Verfettung. In den Capillaren befinden sich viele Bacillen. Ausserdem findet man in der Marksubstanz ziemlich reichliche kurze Bacillen in den zerfallenen Protoplasmamassen der Markzellen.

Herz: Muskel selbst zeigt keine Veränderung; im Blut findet man überall zahlreiche, aber meist vereinzelte, selten zu einigen gruppirte Bacillen, welche meist dicke, lichtbrechende Kapseln zeigen.

Lunge: Nur einige ganz kleine, höchstens einige Alveolen einnehmende pneumonische Herde mit einer dicht gedrängten centralen Bacillenmasse; mit letzterer ist das Gefässlumen angefüllt. Ausser dieser centralen Masse des erwähnten Herdes finden sich noch mehrere Bacillen in den infiltrirten Alveolen. Im Bronchiallumen findet man keine Bacillen, während in den grossen Gefässen und interalveolaren Capillaren überall zahlreiche Bacillen vorhanden sind.

Darm: Nur in den Drüsenschläuchen findet man mehrere Bacillengruppen.

Wichtige Befunde: Dieselbe Veränderung wie bei dem grossen Meerschweinchen, nur etwas hochgradiger. Besonders Bacillenverschleppung sehr auffallend; z. B. reichliche Bacillen in der Niere, während in letzterer beim grossen Meerschweinchen keine Bacillen vorhanden sind.

Das Resultat.

Die nachgewiesenen wichtigen anatomischen Befunde sind folgende:

1. Fibrinös-nekrotische Entzündung ohne nachweisbare Eiterung an der Infectionsstelle.
2. Lymphadenitis mit Nekrotisirung und Bacillenverschleppung, oft auch mit Metastasenbildung in den benachbarten Lymphdrüsen.
3. Lymphadenitis mit Bacillenverschleppung in den entfernt gelegenen Lymphdrüsen.
4. Milzanschwellung durch Hyperämie und celluläre Hyperplasie (letztere habe ich bei der Schilderung der mikro-

Digitized by Google

skopischen Untersuchung nicht besonders angegeben), sowie Bacillenverschleppung.

5. Metastasenbildung in der Milz bei dem fortgeschrittenen Fall.
6. Multipel auftretender Zerfall der Leberzellen mit Leukocytenansammlung. (Diese Herde erweisen im Anfangsstadium eine negative Reaction gegenüber der Weigert'schen Fibrinfärbung, aber im nächsten Stadium eine positive.)
7. Metastasenbildung in der Leber bei dem vorgerückten Fall.
8. Parenchymatöse Degeneration der drüsigen Organe, Leber und Niere u. s. w.
9. Pneumonische Infiltration und Oedem ohne Bacillenansiedelung in der Lunge.
10. Pneumonische Infiltration mit Bacillenhaufen in der Lunge.
11. Hämorrhagien in den verschiedenen Organen, z. B. Milz Leber, Niere, Lunge, Pleura, Herzmuskel u. s. w.
12. Bildung der eigenthümlichen fibrinösen Massen mit oder ohne Bacillen in den Gefässen und in den Gewebsräumen von den verschiedenen Organen, besonders von Leber und Milz, sowie Lymphdrüsen.
13. Peritonitis.
14. Pestbacillen im Gewebe: äussere Gestalt ist sehr oft rundlich, oval oder bacteriumförmig, relativ wenig lange Bacillenform. Die meisten Bacillen besitzen ausserhalb des Bacterienleibes eine helle Zone, welche man wohl als Kapsel ansprechen kann. Die rundlich oder oval geformten Bacillen zeigen oft im Centrum eine schwächere Färbung, wodurch sie die sog. Bläschenform resp. bipolare Form erhalten. Unter solchen Bacillen muss man aber zwei Arten unterscheiden, deren eine regelmässig gestaltet, scharf conturirt und gut gefärbt ist, und überall im Gewebe vorkommt, wo der Bacillus sich energisch entwickelt. Hingegen zeigt die andere Art einen dicken, mehr aufgequollenen Leib

Digitized by Google

und eine unregelmässige Gestalt, sowie eine schwache Färbung und kommt nur im Centrum der Bacillencolonie oder im nekrotischen Theil des Gewebes vor, woraus diese Form wohl als die Involutionsform des Bacillus angesehen werden kann. Bei dieser Form tritt die sog. Bläschenform besonders auffallend hervor. Demnächst kommt die Form des Bacteriums vor, bei welcher oft das Centrum, aber noch öfters die Mitte sich schwach gefärbt zeigt. Die langen Stäbchen und Bacillenfäden treten auch nicht selten auf, welche sich manchmal in der Mitte oder stellenweise (bei Bacillenfäden) schwach gefärbt erweisen.

Bei der Stäbchenform kommt schwache centrale Färbung selten vor. Wenn sie aber im Centrum schwach gefärbt sind, nehmen sie die den sporentragenden Rauschbrandbacillen ähnliche Form an. Der Pestbacillus ist gewöhnlich nicht in Zellen eingeschlossen.

Nun möchte ich einige der genannten Veränderungen in aller Kürze meiner Kritik unterziehen.

Vor Allem muss ich darauf aufmerksam machen, dass die erwähnten anatomischen Veränderungen in zwei Gruppen getheilt werden können. Eine Reihe derselben gehört zur Intoxicationserscheinung, während die andere als Folge der directen Bacterienwirkung anzusehen ist. Ausgedehnte allgemeine Hämorrhagien, parenchymatöse Degeneration der drüsigen Organe, Milzanschwellung, multiple Herdnekrose in der Leber, Pneumonie ohne Bacillenansiedelung nenne ich die erstere Gruppe, während lokale Entzündung der Infectionsstelle, Lymphadenitis, Metastasen in der Milz und Leber und Pneumonie mit Bacillenansiedelung wohl zur directen Wirkung der Bacillen gezählt werden müssen.

Lymphadenitis und darauffolgende Nekrose treten auch nur durch Toxinwirkung auf, weil nicht selten eine ausgedehnte Nekrose in der Lymphdrüse beobachtet wird, in welcher nur zerstreute Bacillen hier und da zu finden sind und diese Bacillen in keinem Zusammenhang mit dem nekrotischen Process stehen.

Digitized by Google

Nun fragt es sich, ob die Bildung der oben geschilderten eigenthümlichen fibrinösen Massen durch die Toxinwirkung oder durch die directe Bacterienwirkung hervorgerufen wird. Ich habe oft gesehen, dass diese Masse reichliche Mengen von Bacillen eingeschlossen hält. Aber man sieht auch nicht selten die genannte Masse ohne Bacillen in dem Falle, bei welchem eine spärliche Anzahl des Bacillus in die Cirkulation gerathen ist.

Es entwickelt sich zweifellos theils dadurch, dass die Gefässwand, hauptsächlich das Endothel durch Toxine geschädigt wird und darauf die fibrinöse Masse niederschlägt; theils dadurch, dass die in die Cirkulation gelangten Bacillen im Blute sich vermehren und Haufen bilden, auf welche der Fibrinstoff niederschlägt und daraus die genannte Bildung der fibrinösen Masse folgt.

Zweite Frage ist, was für ein Bestandtheil diese fibrinöse Masse sei. Sie erweist keine positive Färbung durch die Weigertsche Fibrinfärbungs-Methode, was auch Albrecht und Ghon[1]) bei dem Menschenmaterial nachgewiesen haben. Ich halte diese jedoch für ein durch Bacterienproduct modificirtes Blutfibrin. Denn sonst gibt es keine Möglichkeit, dass man diese für andere Bestandtheile hält. Uebrigens ist die negative Reaction gegenüber der Fibrinfärbung oft kein sicherer Nachweis, dass man dadurch das Fibrin ausschliessen kann. Vielleicht beruht der Grund dieser negativen Reaction der genannten Masse auf der Modification durch Bacterienproduct.

Ausserdem befindet sich diese fibrinöse Masse auch in den Gewebslücken. Diese Bildung entwickelt sich ohne Zweifel durch die Gerinnung des Gewebssaftes durch Bacterienproduct.

Die Schädigung der Endothelien und der anderen Elemente der Gefässwand ist eine charakteristische Wirkung der Pesttoxine, von welcher offenbar die allgemeinen Hämorrhagien und auch die oben gesagte fibrinöse Bildung herrühren.

Noch ein Wort über die Bläschenform des Pestbacillus!

Nach meiner Anschauung wurde dieses Wort von anderen Autoren oft falsch verstanden. Yamagiwa, von dem das Wort

1) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

stammt, wollte vielleicht seine sog. bläschenförmigen Bacillen der sog. in der Mitte schwach gefärbten Bacillenform anderer Autoren gegenüberstellen, weil er im Gewebe die ersteren häufiger beobachtet hatte als die letzteren.

Nun haben die anderen Autoren unter dem Wort die aufgequollenen, rundlich ovalen, schwach gefärbten Bacillen angenommen, bei welchen zweifellos die Bläschenform deutlich hervortritt.

Um diese Täuschung zu vermeiden, habe ich in meiner obigen Schilderung zwei Formen unter den rundlich ovalen, bläschenförmigen Bacillen unterschieden.

Bei der Beschreibung von Yamagiwa tritt dieser Unterschied nicht scharf hervor, aber es ist ganz klar, dass er unter diesem Wort nicht nur die sog. Degenerationsform angesehen hatte, sondern auch andere gut gefärbte, jedoch im Centrum (nicht in der Mitte, d. h. nicht im Mittelstück des Bacillenleibes) schwach gefärbte Bacillen, weil er im Gewebe fast überall (nicht nur im Centrum der Bacillencolonien oder im nekrotischen Theil) derartige Bacillen angetroffen hatte.

Wer nur die Schnittpräparate untersucht, in welchen öfters am meisten derartige Bacillen vertreten sind, der wird auch behaupten, dass diese ovale Form eine Hauptgestalt des Pestbacillus sei. Also wäre es verfehlt, wenn man schliesst, dass Yamagiwa die Degenerationsform als die Originalform des Pestbacillus hinstellt, wie von Albrecht und Ghon[1]) direct behauptet wurde (S. 325).

Es sei noch bemerkt, dass die Bacillen in den Gefässen und Capillaren der inneren Organe am meisten in der Milz und Leber, dann in der Lunge, hingegen in der Niere viel später und auch weniger zahlreich enthalten sind.

Was die an der Infectionsstelle vorhandenen Mischinfectionen von Bacterien anbetrifft, habe ich an drei Ratten solche gefunden, welche nach der Impfung durch die Impfwunde oder entzündete Haut hindurch eingedrungen waren. Diese Bacterien waren aber

1) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

nur an der Impfstelle entwickelt, mit einer Ausnahme der Ratte *i*, in deren Lymphdrüse andere Bacillen ausser dem Pestbacillus vorhanden waren. Sonst waren diese der Mischinfection zuzurechnenden Bacillen in keinem andern Organe vorhanden. Sie riefen überhaupt keine besonderen Veränderungen im Vergleich mit den anderen rein inficirten Thieren hervor und kommen deshalb wenig in Betracht.

Zusammenfassung.

Auf Grund der Resultate meiner Arbeit, sowie bei Erwägung der Untersuchungen von verschiedenen Autoren, gelange ich zu der wichtigen Frage, zu welcher Art der Infectionskrankheiten die pathologischen Erscheinungen der Pest gehören. An der Hand der Thierversuche wurde von mehreren Bacteriologen betont, dass die stark virulente Pestcultur den raschen Tod mit geringen anatomischen Veränderungen, dagegen die schwach virulente Cultur den langsamen Verlauf mit erheblichen Veränderungen hervorruft.

Fast übereinstimmend wurde allgemeine Verbreitung des Pestbacillus im ersten Falle nachgewiesen, und das Wesen der Krankheit wurde als acute Septicämie angesehen, ohne histologische Untersuchung über die Verbreitung des Pestbacillus im Organismus. Alle Autoren wandten hauptsächlich die gewöhnlichen bacteriologischen Untersuchungsmethoden im engeren Sinne an, d. h. ohne histologische Feststellung; infolgedessen blieben ihre Kenntnisse über die histologische Verbreitung des Mikroorganismus mangelhaft. Denn es ist unmöglich, mittels der gewöhnlichen bacteriologischen Untersuchungsmethoden, d. h. der mikroskopischen und culturellen Untersuchung des verwendeten Organsaftes, zu unterscheiden, in welchen Theil der Organgewebe die Bacterien lokalisirt sind. Deshalb blieb es unentschieden, ob der Mikroorganismus im Blut circulire oder theilweise schon an der Wand anhafte, wie auch durch die Gefässwand auf eine gewisse Strecke in das Gewebe eindringe. Es ist meines Erachtens von grösster Wichtigkeit festzustellen, ob der Mikroorganismus seinen wesentlichen Sitz mehr im Blut hat, wie

Digitized by Google

bei Milzbrandbacillus, oder aber nach dem Eindringen in das Blut schliesslich in einzelne Organe eindringe, um Metastasen zu bilden, wie bei allgemeiner Miliartuberkulose. Es ist auch nicht unmöglich, dass sich der Bacillus mehr im primären Herd — an der Impfstelle bei Versuchsthieren — lokalisirt und durch die hier gebildeten Stoffwechselproducte den ganzen Organismus vergifte, und dass nur bei starker Vermehrung die Bacillen weiter in die Blutbahn eindringen, wie beispielsweise bei Typhus abdominalis. Im letzteren Falle genügt das Vorhandensein des Organismus im Blute nicht, um den Schluss zu ziehen, dass es sich hier um Septicämie handelt. Die erwähnten Fragen können erst durch genaue, histologische Verfolgung der Verbreitung des Mikroorganismus gelöst werden. Noch bedeutend wichtiger ist die histologische Untersuchung bei langsam verlaufenem Falle, so dass nur dadurch ein klares Bild der Krankheitserscheinung vorgestellt werden kann. Bei meinen Thierversuchen haben sich mir zweierlei verschiedene Krankheitsbilder der Pest gezeigt. Das erste Bild wird dadurch charakterisirt, das der Krankheitserreger im primären Herd sich lebhaft entwickelt und eine ausgedehnte nekrotische Entzündung nebst allgemeiner Veränderung hervorruft, ferner aber in spärlicherer Anzahl in das Blut, in die Lymphdrüse, in die Leber und Milz hineindringt, wie man bei Ratte c, e und l meiner Versuchsthiere erhielt. Dabei lassen sich noch zwei Unterformen unterscheiden; bei der ersteren derselben befinden sich die Bacillen im Blute, in der Milz und Leber u. s. w. nur in einer verschwindend kleinen Anzahl, so dass man die Bacillen nur durch Cultur nachweisen kann, und dass keine Exemplare von ihnen in Schnittpräparaten gefunden werden. Als Beispiel davon nenne ich Ratte c und l. Dagegen zeigt die zweite Form deutlicheres Auftreten der Bacillen in den oben erwähnten Organen, so dass man die Bacillen sowohl durch Culturverfahren als auch in Schnittpräparaten nachweisen kann, wie aus dem Befund der Ratte e hervorgeht. Immerhin aber zeigen die Bacillen in diesen beiden Fällen gleichfalls eine nur geringe Verschleppung durch das Blut, und die allgemeinen Erscheinungen haben hier keinen directen Zusammenhang mit

Digitized by Google

verschleppten Bacillen, sondern es liegt die Folge allgemeiner Intoxication vor.

Hingegen wird das zweite Bild dadurch gekennzeichnet, dass der Bacillus vom primären Herd aus nicht nur in die Cirkulation gelangt, sondern auch zweifellos im Blute in bedeutender Anzahl sich vermehrt, dass der Bacillus an die Wand der Gefässe anhaftet und durch die Gefässwand hindurch in das Gewebe eindringt, und schliesslich im letzteren die sog. Metastase hervorruft. In diesem Falle findet man Bacillen nicht nur stellenweise im Blute, sondern fast überall in den Capillaren und Gefässen der inneren Organe, oft in der Weise, dass die Capillaren mit Bacillen strotzend gefüllt und die Gefässe durch Bacillenmasse häufig verstopft sind.

Das genannte zweite Bild habe ich bei meinen zwei Meerschweinchen und bei einer Ratte i gesehen, bei welcher aber nur massenhaftes Auftreten des Bacillus in den Capillaren einzelner Organe sich zeigt, während bei ersteren ausserdem noch Ansiedelung des Bacillus im Gewebe und darauffolgende Metastasenbildung in inneren Organen sich vorfinden. Dadurch könnte man das zweite Bild wieder in zwei Formen theilen. Im vorgerückten Stadium tritt hier nicht nur allgemeine Verschleppung des Bacillus in den Kreislauf auf, sondern der Mikroorganismus zeigt wohl auch eine bedeutende lokale Vermehrung im Blut, massenhafte Ansiedelung an die Gefässwände, darauffolgende Embolisirung, weitere Verschleppung durch die Gefässwände und daraus folgende Metastasenbildung. Manche Capillaren der einzelnen Organe sind öfters mit Bacillen strotzend angefüllt, so dass man eine Analogie dieses histologischen Bildes nur bei Milzbrand findet. Typische Metastasenbildung in den inneren Organen wird für immer im Zusammenhang mit lokalem Wachsthum des Organismus beobachtet. In diesem Falle ist das Blut nicht nur ein Vermittelungsorgan des Bacillus zur Metastasenbildung, sondern wohl eine Brutstätte desselben, d. h. ein Krankheitsherd. Ein derartig typisches Bild tritt niemals bei der allgemeinen Miliartuberkulose auf, obschon es bei dieser letzteren räthselhaft bleibt, ob die Bacillen im Blute selbst sich vermehren oder nur durch das Blut transportirt werden.

Digitized by Google

Aus den oben erwähnten Betrachtungen geht hervor, dass die experimentelle Pest kein einfaches Bild zeigt, vielmehr verschiedene Formen zu Tage treten lässt. Es lässt sich nämlich das oben genannte erste Bild als eine lokale Erkrankung mit allgemeiner Intoxication und gelegentlicher Verschleppung des Mikroorganismus in den Kreislauf betrachten, also etwa in Parallele mit Typhus abdominalis.

Das zweite Bild können wir jedoch wohl als echte Bacteriämie mit Metastasenbildung ansehen, also ungefähr in Parallele ziehen mit Milzbrand. Nun frägt es sich, welches dieser zwei Bilder als das wesentlichste bei der Pest in Betracht kommt.

Um diese Frage zu entscheiden, komme ich auf die menschliche Pathologie bei der Pest zurück. Was für ein Krankheitsbild stellt die Pest beim Menschen dar? Die Meinungen über diese Frage gehen wieder weit aus einander!

Nach den Erfahrungen von menschlichen Pestforschern ist das Bild ebenso verschieden wie bei Thieren.

Lassen wir die einzelnen Berichte folgen!

Von Aoyama's Bericht[1]) haben wir Folgendes zu erwähnen:

Milz: »Mikroskopisch sind die Gefässe sehr erweitert und man sieht oft, aber nicht in allen Fällen, massenhafte Pestbacillen und selten andere Bacterien (Mikrococcen), auch gibt es Milzen, in denen keine Bacterien auffindbar sind.« (S. 107.)

Nieren: »Zuweilen sieht man in den interstitiellen Substanzen und in den Glomerulus-Schlingen Pestbacillen oder hühnercholera-ähnliche Bacillen.«

Leber: »Die Pestbacillen und die hühnercholera-ähnlichen Bacillen sind zuweilen in grosser Menge in den inter- und intraacinösen Geweben vorhanden.« (S. 108.) Also fand er oft bei den tödtlich verlaufenden Fällen keine Bacillen im Blute der Organe.

Dieser Umstand wurde besonders scharf von Yamagiwa[2]) hervorgehoben, indem er betont: »Nein, bei der menschlichen

1) Siehe Anmerkung 3 auf S. 107.

2) Siehe Anmerkung 4 auf S. 108.

Digitized by Google

Bubonenpest lokalisirt sich der Pesterreger in den Lymphdrüsen, und zwar zuerst in den am meisten peripherisch gelegenen.«

Er fand in seinen histologischen Präparaten von Pestleichen wirklich keinen Pesterreger in den normal beschaffenen Gefässlumina (ausser seinen sog. diplococcenartigen Stäbchen, in einem Falle sogar keine Pestbacillen in einzelnen Organen ausser den Lymphdrüsen), während Aoyama den betreffenden Erreger oft in den Blutgefässen antraf.

Albrecht und Ghon[1]) erwähnten auch drei Fälle, bei welchen bis zum Tode die Blutuntersuchung negativ ausfiel; bei einem derselben wurden bei der Section histologisch ebenfalls keine Bacillen in Milz und im Blute gefunden.

Durch andere klinische Erfahrungen lernten wir auch kennen, dass der Pesterreger nicht immer in den Kreislauf eintritt.

Aus allem geht hervor, dass die menschliche Pest wirklich auch echte lokale Erkrankung aufweist, ohne allgemeine Verschleppung des Bacillus durch das Blut.

Viel häufiger kommt die Pest bei Menschen mit mehr oder weniger allgemeiner Verschleppung des Mikroorganismus vor, wie das aus den Fällen von Aoyama und dem zweiten Falle von Yamagiwa erhellt.

Die erwähnten Formen der menschlichen Pest würden wohl mein obengenanntes, erstes Bild darstellen.

Der einzige Unterschied besteht darin, dass der primäre Herd bei Menschen mehr in den Lymphdrüsen lokalisirt ist, obschon bei Menschen manchmal auch ein primärer Herd auf der Haut, sog. Pestpustel sich zeigt, während bei Thieren derjenige an der Impfstelle verbleibt.

Noch häufiger und charakteristischer scheint mir das als zweites geschilderte Bild zu sein; das geht besonders aus der Erfahrung von Albrecht und Ghon hervor.

Der dritte Fall von Yamagiwa stellt auch eine ähnliche Veränderung dar, obwohl in den normal aussehenden Gefässen kein Pestbacillus gefunden wurde.

1) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

Für solch ein auffallendes Krankheitsbild der Pest, die echte Bacteriämie mit Metastasenbildung darstellt, besitzen wir bisher fast kein Analogon in der menschlichen Pathologie, ausser der ähnlichen Veränderung bei Milzbrand und Eitercoccen-Pyämie.

Die beschriebenen zwei Krankheitsbilder der Pest finden wir also nicht nur bei Thieren, sondern auch genau so beim Menschen.

Ausserdem habe ich oft Fälle angetroffen, bei denen eine schwach virulente Cultur eingespritzt wurde, die mehr oder weniger deutliche, lokale Anschwellung zeigten und sich schliesslich erholten.

Leider habe ich keine genaue Untersuchung bei solchen Thieren vorgenommen und deshalb nicht constatiren können, wie weit der Mikroorganismus sich verbreitete. Es lässt sich aber, ohne jedenfalls fehlzugehen, wohl behaupten, dass der Mikroorganismus sich wahrscheinlich nur an der Impfstelle mehr oder weniger vermehrt und schliesslich abstirbt, ohne eine allgemeine Verschleppung zu erzeugen. Als lokale Erkrankung zeigt dieser Fall ein ganz ähnliches Bild, wie das erstgenannte. Das Vergiftungsvermögen des Pestbacillus ist der einzige Unterschied zwischen beiden Fällen. Ein solches Bild tritt beim Menschen auch nicht selten auf, wie Albrecht und Ghon erwähnen.

Suchen wir nun aus den, im Vorhergehenden aufgestellten verschiedenen Erscheinungen festzustellen, welches das wesentlichste Krankheitsbild der menschlichen Pest ausmacht!

Dabei auf die einzelnen Anschauungen der Autoren besonders einzugehen, wird überflüssig sein, begnügen wir uns, einige grosse Abweichungen hervorzuheben.

Kitasato[1]) lenkte seine Aufmerksamkeit auf das Blut und fasste die Pest als eine dem Milzbrand ähnliche septicämische Infectionskrankheit auf.

Kolle[2]) äussert sich ähnlich: »Diese Ergebnisse des Thierexperiments schliessen den Kreis der Beweismomente für die

1) Siehe Anmerkung 1 auf S. 107.
2) Siehe Anmerkung 6 auf S. 108.

Digitized by Google

ätiologische Bedeutung der Pestbacillen, welche als Paradigma für die septicämischen Infectionserreger neben den Milzbrandbacillen gestellt werden können. Der Pestbubo entspricht dem Carbunkel als Lokalprocess.« (S. 147.)

Wilm[1]) behauptet: »Nach den mikroskopischen und bacteriologischen Untersuchungen erweist sich die Pest somit als eine Krankheit, bei der im Blute, in den Organen, im Speichel, Urin und Koth der Erkrankten bezw. Verstorbenen ein specifischer Bacillus vorhanden war, der in Reinculturen auf verschiedene Thierarten übertragen, bei denselben die gleiche Krankheit hervorrief.« (S. 232.)

Babes[2]) pflichtet der Zuordnung des Pestbacillus zu der hämorrhagischen Septicämie (Kruse) voll und ganz bei und erklärt ihn für den typischen hämorrhagigenen Bacillus des Menschen, wodurch vielleicht seine Bösartigkeit erklärt wird. Er sagt: »Die Fähigkeit desselben (des Bacillus), sich in allen Organen und Systemen des Menschen anzusiedeln, in den Blutgefässen, wie in den Lymphgefässen unbeschränkt zu wuchern, ohne gewöhnliche bedeutende Leukocytenansammlung zu veranlassen, ohne in der Regel in Zellen eingeschlossen zu werden, besonders aber die Eigenschaft desselben, die Lymphdrüsen und die Blutgefässe eigenthümlich zu verändern, dann aber noch ausgebreitete Degeneration aller Parenchyme und namentlich des centralen Nervensystems zu verursachen, erklärt seine besondere Bösartigkeit.« (S. 371.)

Ferner ist es bekannt, dass unser Altmeister Virchow[3]) in seiner früheren Mittheilung die Pest mit dem Milzbrand in Vergleich stellte.

Die letzten Forscher der menschlichen Pest, Albrecht und Ghon[4]), fassten die Pest, abgesehen von den rein lokal verlaufenden Fällen, als eine Allgemein-Infection mit dem Bilde einer schweren, hämorrhagischen Septicämie auf, indem sie

1) Siehe Anmerkung 3 auf S. 110.
2) Siehe Anmerkung 1 auf S. 139.
3) Siehe Anmerkung 7 auf S. 128.
4) Siehe Anmerkung 2 auf S. 110.

Digitized by Google

unter dieser eine Krankheit verstehen, bei der von einem primären, lokalen Herde aus mehr oder weniger zahlreich Bacterien in den Blutkreislauf gelangen, sich daselbst vermehren und durch ihre Giftstoffe Blutungen in verschiedenen Organen erzeugen. Nach ihrer Meinung hat die Pest in diesem Sinne die grösste Aehnlichkeit mit Milzbrand. (S. 322.)

Im vollen Gegensatze dazu steht Yamagiwa[1]) mit seiner Ansicht: »Wenn der Pesterreger aber nachträglich von Zeit zu Zeit in die Blutbahn resorbirt wird, so cirkulirt er nicht lange im Blute, sondern er wird in irgend welchen Organen und Geweben deponirt wie bei der Miliartuberkulose.« (S. 116.)

Eine Mittelstellung zwischen diesen Anschauungen nimmt die Ansicht der deutschen Pestcommission ein[2]): »Somit wäre die Pestsepticämie keine besondere Form der Pest, sondern nur eine Verallgemeinerung anfangs lokalisirter Pestformen. Dass sie wieder secundäre Lokalisationen in innere Organe setzen kann, haben wir am Beispiel der Pestmeningitis dargethan.« (S. 75.)

Kommen wir zum Schluss, so muss ich gestehen, dass ich nach eigenen Untersuchungen weder der einen noch der anderen Ansicht ganz beitreten kann. Denn das gesammte Resultat der bisherigen Untersuchungen lehrt uns, wie gesagt, dass das Krankheitsbild weder beim Menschen noch bei Thieren ein einfaches ist. Nur glaube ich nicht fehlzugehen, wenn ich das Krankheitsbild der Pest mit folgenden Sätzen formulire:

»Die Pest ist eine an der Infectionsstelle und in den hauptsächlich der Infectionspforte benachbarten Lymphdrüsen lokalisirte, jedoch immer durch allgemeine Intoxicationserscheinungen charakterisirte Erkrankung, welche aber immer sehr grosse Neigung besitzt, allgemeine Verschleppung und sogar auch Vermehrung des Bacillus im Blute, sog. Bacteriämie, mit Metastasenbildung hervorzurufen.«

In diesem Sinne zeigt die Pest also ein Paradigma zum Typhus abdominalis bezw. Milzbrand, was offenbar durch die

1) Siehe Anmerkung 4 auf S. 108.

2) Siehe Anmerkung 4 auf S. 128.

Digitized by Google

Virulenz des Krankheitserregers und die individuelle Disposition des Organismus bedingt wird.

Ob nun das erste Bild oder das zweite als das wesentlichste und häufigste der menschlichen Pest zu gelten hat, das bleibt vorläufig eine offene Frage, die erst spätere praktische Erfahrungen lösen dürften.

Zum Schlusse will ich nicht versäumen, meinem hochverehrten Herrn Professor Schottelius für die Anregung zu dieser Arbeit und die bereitwilligste Ueberlassung des erforderlichen Materials, sowie seine erfolgreichen Rathschläge bei den Untersuchungen aufrichtigen Dank auszusprechen. Ebenso sage ich dem hochverehrten Herrn Geheimrath Professor Ziegler für die freundliche Unterstützung bei der Durchsicht der histologischen Präparate meinen verbindlichsten Dank.

Digitized by Google

Experimentelle Untersuchungen über das Conserviren von Fisch und Fleisch mit Salzen.

Von

Alfred Pettersson

aus Upsala.

(Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag; Vorstand: Prof. Dr. Hueppe.)

I. Geschichtliches.

Im allgemeinen sind die meisten Nahrungsmittel, die eine grössere Menge Wassers enthalten, einer Zerstörung durch die Thätigkeit von Mikroorganismen unterworfen, insofern sie nicht dagegen auf eine oder die andere Weise geschützt werden können. Das gewöhnlichste Mittel, das zu diesem Zwecke benützt wird, ist Kochsalz. Der Brauch, Fleisch einzusalzen, ist wohl uralt, und der Name dessen, welcher zum ersten Male davon Gebrauch machte, ist nicht bewahrt worden. Wahrscheinlich hat auch die Erkenntnis der conservirenden Eigenschaften des Kochsalzes für Nahrungsmittel zu dessen Verwendung als Antisepticum bei der Wundbehandlung bei den alten Athenern den Anlass gegeben[1]). Als Erfinder einer verbesserten Methode des Häringseinsalzens wird ein Fischer zu Biervliet in Flandern, Willem Beukelsz (oder Bökel), gestorben 1397, genannt. Von seinem Namen leitet man das Wort pökeln und Bückling[2]) ab.

1) Anagnostakis, La méthode antiseptique chez les anciens Athènes, 1889, cit. nach de Freytag.

2) Brockhaus, Conversationslexikon, 1892, Bd. III, S. 248.

Digitized by Google

Das Kochsalz erfreute sich auch seiner antifermentativen Eigenschaften wegen eines grossen Rufes, bis in den letzten Jahrzehnten die bacteriologischen Forschungen die früheren Ansichten veränderten. Es fehlen aber systematischen Untersuchungen über seine fäulnishemmenden Eigenschaften, und im wesentlichen beschränken sich die Angaben auf seinen Einfluss gegen pathogene Organismen. Koch[1]) hat zuerst die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, dass Kochsalz auch in relativ concentrirten Lösungen den Bacterien sehr wenig schädlich ist. Doch wurde bei einer Verdünnung 1:64 das Wachsthum des Milzbrandbacillus noch verlangsamt.

Peuch[2]) fand 1887, dass ein Schinken eines milzbrandkranken Thieres 14 Tage nach dem Einsalzen noch entwickelungsfähige Keime enthielt. Nach 1½ Monaten aber war der aus dem Schinken ausgepresste Saft für Kaninchen nicht mehr infectiös. Bei Desinfectionsversuchen mit Eitercoccen wurde Martens[3]) von dem Mangel desinficirender Wirkung verschiedener Körper, unter anderen des Kochsalzes, überrascht.

In Betreff der Einwirkung concentrirter Salzlösungen auf krankheitserregende Bacterien hat de Freytag[4]) nachgewiesen, dass bei Zimmertemperatur der Typhusbacillus, der Erreger der Säugethiertuberculose und der Schweinerothlaufbacillus in solchen Lösungen nach bezw. 2, 3 und selbst 5 Monaten lebensfähig und virulent waren. Die Milzbrandbacillen wurden in eingesalzenen Organen binnen 2 Stunden getödtet, und die höchste Concentration, bei der sie das Leben behielten, war 7%. Was tuberculös veränderte Organe von Schlachtthieren angeht, so wurde, im Gegensatz zu der Angabe Galtier's[5]), die Infections-

1) Koch, R., Ueber Desinfection. Mittheilungen a. d. kais Ges.-Amte, 1881, Bd. I, S. 273.

2) Peuch, Compt. rend. de l'acad. des sc. de Paris, T. CV, 1887, S. 285.

3) Martens, G., Beiträge zur Kenntnis der Antiseptica. Virchow's Archiv, Bd. 112, S. 369.

4) Freytag, de, C. J., Ueber die Einwirkung concentrirter Kochsalzlösungen auf Bacterien. Archiv f. Hygiene, Bd. XI, 1890.

5) Galtier, Congr. p. l'étude de la tuberculose. Compt. rend. et mém., 1887, cit. nach Freytag.

Digitized by Google

möglichkeit durch ein 3 Monate lang dauerndes Einsalzen durchaus nicht aufgehoben.

Petri[1]) hat den Einfluss des Kochsalzes auf den Schweinerothlaufbacillus untersucht und gefunden, dass dieser, an Seidenfädchen angetrocknet, bei einem Salzgehalte von 23,5% nebst ein wenig Zucker und Salpeter zwar getödtet wurde, aber erst nach 26 Tagen, und dass er im Pökelfleisch noch nach 30 Tagen lebenskräftig und virulent war.

Bei Untersuchungen über den Bacteriengehalt der Butter fand Lafar[2]) ein Stäbchen, das bei 10% Kochsalz noch nicht getödtet wurde.

In Wurstsorten mit viel Wasser, die schnell zersetzt werden, fand Serafini[3]) zwischen 2,2 bis 3,5% Kochsalz, in länger haltbaren, wasserärmeren 4,5 bis 8,1%. Nach ihm ist »Kochsalz kein Desinfectionsmittel im wahren Sinne des Wortes«. Durch wiederholte Untersuchungen hat er sich überzeugt, dass Kochsalz nicht einmal in der Menge von 8% die Entwickelung von Mikroorganismen auf festen Nährsubstraten verhindert. Es verzögert aber die Entwickelung, und diese Verzögerung macht sich auch in bemerkenswerther Weise bei Nährsubstraten geltend, welche nicht mehr als 5% Kochsalz enthalten, besonders dann, wenn sie bei Zimmerwärme gehalten werden. Kochsalz ist sonach unmöglich allein das wirkliche Agens der Wurstconservirung; letztere hängt vielmehr hauptsächlich von dem schwächeren oder stärkeren Trocknen des Fleisches ab. Dadurch, dass das Kochsalz die rasche Entwickelung und Lebensthätigkeit der Bacterien hemmt, ermöglicht es das Eintreten der Trocknung, welche hauptsächlich und zuvörderst die Conservirung bedingt.

Auch Silberschmiedt[4]) ist zufolge eines Falles von Fleischvergiftung, wobei auch das Pökelfleisch von dem krank

1) Petri, R. J., Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte, Bd. VI.

2) Lafar, F., Bacteriologische Studien über Butter. Archiv f. Hygiene, Bd. XIII.

3) Serafini, S., Chemisch-bacteriologische Analysen einiger Wurstwaaren. Archiv f. Hygiene, Bd. XIII, 1891.

4) Silberschmiedt, W., Ueber eine Fleischvergiftung. Correspondenzblatt f. Schweizer Aerzte, 1896, S. 234.

Digitized by Google

gewesenen Thiere untersucht wurde, zu der Auffassung gekommen, dass das Einsalzen keineswegs im Stande sei, auch nur wenig widerstandsfähige, sporenfreie Mikroorganismen zu vernichten. Er ist vielmehr geneigt, anzunehmen, dass die in dem infectiösen Fleische vorhandenen Bacterien, besonders in dickeren Stücken, während dieses Processes sich weiter vermehren können.

Wehmer[1]) hat nachgewiesen, dass Häringslake, deren Salzgehalt er zu 23 bis 24% bestimmte, keineswegs steril, sondern im Gegentheil reich an lebensfähigen Organismen ist. Er hat daraus eine Hefe isolirt, die, wenn auch etwas langsamer, noch bei einem Gehalte des Nährbodens von 15% Kochsalz fortkam. Ihren Platz in jetzigem System lässt er offen. Er scheint auch über die Sporenbildung derselben keine Versuche angestellt zu haben. Die Zahl der Hefezellen im Cubikcentimeter wird auf ungefähr 60000 geschätzt. Eine Salzmenge von 3 bis 5% der Würze zugesetzt, übte keinen hemmenden Einfluss, und erst bei 15% war eine deutliche Verzögerung des Wachsthums festzustellen. In Betreff der Herkunft der Salzhefe stellt er drei Möglichkeiten auf: Luftinfection, Verunreinigung von Geräthschaften und Gefässen, Ursprung von Meereswasser, bezw. von rohem Fische selbst. Dieser letzten Annahme scheint er sich am meisten zuzuneigen, zumal das Vorkommen von Sprosspilzen im Meereswasser ein nahezu constantes zu sein scheint. Ob die Hefe in der Lake sich wirklich vermehre, lässt er unentschieden und schliesst auch die Möglichkeit nicht aus, dass sie in dieser grossen Menge an oder im Fische schon beim Einpökeln gewesen sein könne. Ueber die chemischen Leistungen dieser Hefe wird fast nichts erwähnt.

Ueber das Pökeln äussert Lafar[2]) in seiner 1897 erschienenen technischen Mykologie: »Bei strengerer Prüfung dieses Verfahrens ergiebt sich, dass es eigentlich nur die wasserbindende Eigenschaft des Kochsalzes ist, welche hier ins Spiel kommt,

1) Wehmer, C., Zur Bacteriologie und Chemie der Häringslake, C.-B., II. Abth., Bd. III.

2) Lafar, F., Technische Mykologie, Jena 1897, S. 173.

Digitized by Google

die ja nichts weiter vermag als das Eine, nämlich bei den dem Fleische aufsitzenden oder später darauffallenden Keimen kräftige Plasmolyse zu erregen und dieselben so an der Vermehrung zu hindern. Ein sicheres Abtödten der Keime, insbesondere der Krankheitserreger, ist dadurch nicht zu erreichen.«

Ganz kürzlich hat Stadler[1]) die bei den Fleischvergiftungen wirksamen Bacterien und einige andere Organismen zu einer neuen Untersuchung herangezogen, um zu bestimmen, ob diese durch concentrirte Kochsalzlösungen sich vernichten lassen. Die Beobachtungszeit wurde auf 6 Wochen ausgedehnt und während dieser Zeit wurden nur Bacillus enteritidis, Bacillus morbificans bovis und ein Stamm von Bacillus coli getödtet und zwar nach bezw. $4^1/_2$, 3 und 2 Wochen.

Weiter hat Stadler die Frage zu beantworten versucht, ob in dem gesalzenen Fleische, das gewöhnlich in verdünnten Salzlösungen aufbewahrt wird, ein Wachsthum stattfinden kann. Deshalb untersuchte er die Vermehrungsfähigkeit der Fleischvergiftungsbacterien in Bouillon mit verschiedenen Mengen Kochsalz. Dabei hat er gefunden, dass bei einer Kochsalzconcentration von 10% eine Entwickelung von Bacillus morbificans bovis und Proteus vulgaris nicht mehr stattfindet, und dass 8% Kochsalz genügen, um die Entwickelung von Bacterium coli und Bacterium enteritidis zu hemmen. Nach van Ermengem's[2]) Angabe ist das Wachsthum des Bacillus botulinus im Schweinefleisch schon bei 6% Kochsalz sistirt.

Daraus zieht er die Schlussfolgerung, »dass ordnungsgemässes Pökeln dem Fleische während der Dauer des Pökelprocesses einen Schutz gegen von aussen eindringende Bacterien gewährt, da eine Entwickelung solcher in der starken Salzlake ausgeschlossen ist. Weiterhin wird eine Vermehrung von Bacterien, die sich vor der Procedur bereits an der Oberfläche

1) Stadler, E., Ueber die Einwirkung von Kochsalz auf Bacterien, die bei den sog. Fleischvergiftungen eine Rolle spielen. Archiv f. Hygiene, Bd. XXXV, 1899.

2) Ermengem, E. van, Ueber einen anaëroben Bacillus. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 26, 1897, S. 44.

Digitized by Google

des Fleisches befanden, durch das Pökeln verhütet. Es muss aber, wenn man völlige Sicherheit dafür haben will, dass keine Bacterienentwickelung stattfindet, der Kochsalzgehalt der Pökellake 10% sein, da bei einem niedrigeren Procentsatz die Gefahr einer Vermehrung der Keime nicht ausgeschlossen ist«.

Zum Schlusse erwähnt Stadler a. a. O., »dass es eine ganze Reihe von Bacterien gebe, die sich noch bei einem hohen Kochsalzgehalt des Nährbodens nicht nur lange Zeit lebensfähig erhalten, sondern sogar eine kräftige Entwickelung zeigen.« Solche Bacterien und Hefen sollen im Forster'schen Institute untersucht worden sein, ohne dass die Resultate bisher veröffentlicht sind.

Aus dem Vorstehenden geht hervor, dass alle diese Untersuchungen über das Verhalten der Bacterien gegen das Kochsalz mit einer Ausnahme lediglich die Frage behandeln, ob es eine vernichtende Wirkung auf einige bestimmte, meistens pathogene Organismen übt, und bei welcher Concentration diese Abtödtung erfolgt. Es wurde also hauptsächlich an die Ausnahmefälle gedacht, bei denen das Fleisch von Anfang an mit krankheitserregenden Keimen behaftet war, von denen die Gefahr einer Infection ausgehen konnte.

Dagegen ist nicht oder nur unvollständig untersucht worden, bis zu welcher Concentration ein Wachsthum von Organismen überhaupt stattfinden kann; ferner ob oberhalb dieser Grenze sofortiges Absterben beginnt, oder ob die Keime noch ihre Lebensfähigkeit behalten, ohne sich aber vermehren zu können; ob unterhalb dieser Grenze verschiedene Organismen in verschiedenen Abstufungen der Salzconcentration sich entwickeln, d. h. ob sie gegen Kochsalz ungleich resistent sind. Weiter kommt in Betracht die Frage, wie die Zersetzungsvorgänge unterhalb dieser Grenze beeinflusst werden, und ob dieser Einfluss durch ungleich hohe Empfindlichkeit der Bacterien zu erklären ist oder durch eine Veränderung der Zersetzungsproducte einzelner Organismen durch das Kochsalz.

Nicht allein der Gehalt an krankheitserregenden Keimen der Nahrungsmittel ist es, der sie gefährlich macht, sondern

Digitized by Google

auch die Veränderungen, denen sie infolge der Lebensthätigkeit von Mikroorganismen ausgesetzt sind. Um diese Veränderungen zu verhindern, wird sowohl Fisch als Fleisch, welche nicht frisch verbraucht werden, eingepökelt oder anders conservirt. Durch die täglichen Erfahrungen aber weiss man doch höchstens nur, wie viel Kochsalz ungefähr zugesetzt werden muss, um das Verderben der Nahrungsmittel zu verhindern, d. h. zu verhüten, dass übelriechende Producte gebildet werden, da es immer dieser stumpfste Sinn der Culturmenschen, der Geruch, ist, welcher das Urtheil fällt. Experimentell ist diese Menge nicht bestimmt worden, und man weiss weiter auch nicht, ob diese Salzmenge, die die Fäulnis hemmt, auch jede Zersetzung überhaupt hindert, oder ob noch oberhalb dieser Grenze weniger tiefgehende Veränderungen des Substrates erfolgen. Dieses angenommen, kann man sich vorstellen, dass entweder die Entwickelung eigentlicher Fäulniserreger völlig unterdrückt wird, oder dass sie sich zwar noch vermehren, aber nicht mehr stinkende Zersetzungsproducte erzeugen können. Es wäre denkbar, dass z. B. ein starker Indolbildner, in 7% Kochsalzbouillon überimpft, noch wachsen, aber kein Indol mehr bilden kann. Ein Beispiel solcher Veränderung der Zersetzung durch chemische Mittel liefert Mycoderma aceti. Effront[1]) hat nämlich nachgewiesen, dass die Zersetzungsproducte dieses Organismus durch Zusatz von Fluorwasserstoff und Gewöhnung an denselben verändert werden, und zwar so, dass weniger Essigsäure und anstatt deren mehr Kohlensäure gebildet wird. Von 100 vergorenen Theilen Alkohol wurden ohne Zusatz von Fluorwasserstoff 97 Theile Essigsäure, mit 0,12 ccm Fluorwasserstoff nur 2,6 gebildet.

Lässt sich in absoluten Zahlen angeben, wie gross der Kochsalzgehalt sein muss, um in allen Fällen Fäulnis zu verhindern, so wäre dies von grosser praktischer Bedeutung. Denn durch allzu starkes, übermässiges Einsalzen wird nicht nur der

1) Effront, J., Accoutumance des ferments aux antiseptiques et influences de cette accoutumance sur leur travail chimique. Compt. rend. de l'Acad. des sciences de Paris, T. CXIX, S. 169.

Digitized by Google

Geschmack verändert, sondern auch der Nährwerth des Fleisches herabgedrückt. Forster[1]) gibt an, dass gepökeltes Fleisch, welches ungekocht über 6% Kochsalz enthält, bereits unangenehm salzig schmeckt. Die Frage, ob in Medien, die so viel Salz enthalten, dass eigentlich Fäulnis unbedingt ausgeschlossen ist, noch bedeutendere von lebenden Organismen bedingte Veränderungen vorkommen, hängt mit der weiteren Frage zusammen, ob es vielleicht unter unseren Fisch- (oder Fleisch-) Conserven einige gibt, an deren eigenartigem Geruch und Geschmack niedrige Organismen mitwirken. Mehrere Momente deuten darauf hin, dass es sich wirklich so verhalten könne.

Obwohl somit das Einpökeln eine uralte und praktisch bewährte Conservirungsmethode für Fisch und Fleisch ist und obwohl bereits einige Untersuchungen vorliegen, welche die wissenschaftlichen Grundlagen dieses Verfahrens zu prüfen gestatten, sind dabei noch manche Fragen vorhanden, deren Beantwortung praktisches und wissenschaftliches Interesse bietet.

II. Ueber die Bedeutung des Wassergehaltes des Rohmaterials für die Zersetzung durch Mikroorganismen.

Wie klein der Procentgehalt Wasser einer der Entwickelung von Organismen übrigens geeigneten Masse sein darf, um Vermehrung und damit folgende Zersetzung zu verhindern, ist nur für einige Nährsubstrate bestimmt worden. Wolf[2]) fand, dass auf Gelatine mit 26,4% Wassergehalt von 7 untersuchten Arten Bacillus typhi und Bacillus anthracis noch eine Spur von Wachsthum zeigten, und auf Gelatine mit 41,5% Wasser nur Vibrio cholera völlig gehemmt wurde. In Fleischpulver mit 40% Wasser kamen Bacillus typhi, Bacillus anthracis und Vibrio cholera nicht mehr fort, wogegen Bacillus pyocyaneus, prodigiosus und Staphylococcus pyogenes aureus noch aufgingen. Nach

1) Forster, J., Ernährung und Nahrungsmittel. Handbuch d. Hygiene, herausgeg. von Pettenkofer und Ziemssen, I. Th., I. Abth., S. 194, 1882.

2) Wolf, Leo, Archiv f. Hygiene, Bd. XXXIV, 1899.

Digitized by Google

König[1]) enthält Stockfisch (getrockneter Schellfisch) 16% Wasser und 1,52% Salze, Fischmehl von Gadus-Arten 17,02% Wasser und 6,22% Salze und Leng (Gadus molva) 28,53% Wasser und 11,82% Salze. In dem letzteren Präparate ist schon der Salzgehalt so gross, dass auch dieser bei der Conservirung mithilft. Serafini[2]) gibt an, dass italienische Salami mit 46,6% Wasser und 4,8% Kochsalz sich lange Zeit hält. Dagegen sollen Münchener Bratwürste mit 66,95% Wasser und 3,3% Kochsalz und Regensburger Wurst mit 54,4 bis 61,4% Wasser und 2,2 bis 3,2% Kochsalz sich nur wenige Tage halten. Stärkeres Austrocknen bis zu einem Wassergehalt von ungefähr 35 bis 40% soll für die Haltbarkeit der Wurst nicht nöthig sein, obwohl es bisweilen so weit getrieben wird, dass nur 14% Wasser übrig bleiben. Der Käse, bei dessen Reifung Mikroorganismen eine wesentliche Rolle spielen, und welcher also diesen einen geeigneten Nährboden bieten muss, ist noch wasserärmer. So enthält fetter Edamer nur 32,5% Wasser, und der Maximalgehalt des fetten Emmenthalerkäses kann bis zu 29,4% hinabgehen. Der Widerspruch erklärt sich daraus, dass der Wassergehalt des frischen Käses bedeutend höher ist.

Es scheint also, so weit man aus diesen spärlichen Angaben schliessen kann, sicher zu sein, dass Nahrungsmittel aus dem Thierreiche mit einem Wassergehalt über 40% ohne Zusatz von Conservirungsmitteln der Zersetzung durch Bacterien, der Fäulnis oder Gährung unterliegen. Diese beiden Begriffe sind nicht strikte definirt, unter Fäulnis aber versteht man in der Sprache des täglichen Lebens jede durch Mikroorganismen hervorgerufene, unter Bildung von stinkenden Producten fortschreitende Zerstörung organischer Stoffe. Bei näherer Untersuchung hat es sich herausgestellt, dass gerade die Eiweissstoffe das Hauptobject der Fäulnis sind, und dass der Process hauptsächlich anaërob erfolgt.

---

1) König, J., Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel. Berlin 1883.
2) Serafini, S., a. a. O.

Digitized by Google

III. Versuchsanordnung und Untersuchungsmethoden.

Bei Zersetzung des Eiweisses werden ausser den unorganischen Endproducten Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Methan (Sumpfgas), Ammoniak und Kohlensäure, theils andersartige Eiweisskörper, theils organische Körper der Fettreihe, theils der aromatischen Reihe gebildet. Der ersten Gruppe gehören Albumosen und Peptone an, der zweiten Ammonsalze der flüchtigen fetten Säuren, Kapron-, Valerian- und Buttersäure, ferner Methylmercaptan und alkaloidähnliche Körper. Der dritten Reihe angehörende Stoffe sind stickstoffhaltig, wie Indol, Scatol, Scatolcarbonsäure und Tyrosin, oder stickstofffrei wie Phenol und Kresol, Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure. Bei der Fäulnis des Eiweisses durch anaërobe Mikroorganismen unter Abschluss von Sauerstoff erhielten Nencki und Bovet[1]) nur p-Oxyphenylpropionsäure, Phenylpropionsäure und Scatolessigsäure. Diese drei Säuren sollten durch Einwirkung des Wasserstoffs in statu nascendi aus den drei entsprechenden Amidosäuren Tyrosin, Phenylamidopropionsäure und Scatolamidoessigsäure entstehen. Doch ist es fraglich, ob man diese Resultate als allgemein giltig betrachten darf, da sie nur bei drei obligat anaëroben Organismen gewonnen wurden. Uebrigens spielen bei der Fäulnis auch die nicht obligat anaëroben Organismen eine ebenso grosse Rolle wie die obligaten.

Auch Fett, für dessen Zersetzung blosser Zutritt von Sauerstoff und Sonnenlicht genügt, wird von Mikroorganismen angegriffen, wie v. Sommaruga[2]) nachgewiesen hat.

Sobald die Zersetzung durch das Auftreten stinkender Producte und durch Aenderung der Farbe und Consistenz sich bemerklich macht, ist schon für unsere Sinne die Untauglichkeit zum Genusse des Nahrungsmittels entschieden. Wenn aber diese

1) Nencki, Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze. Monatshefte f. Chemie, Bd. X. S. 506.

2) Sommaruga, E. von, Ueber Stoffwechselproducte von Mikroorganismen. Zeitschrift f. Hygiene, 15, 16.

Digitized by Google

Momente in Folge des Salzzusatzes in Wegfall kommen, dabei jedoch die Zersetzung in anderer Gestalt weiterschreiten würde, so liegt es noch innerhalb der Grenze der Möglichkeit, dass theils direct schädigende, d. h. giftige, theils der Ernährung des Körpers unzuträgliche, oder im Vergleich mit den ursprünglichen, minderwerthige Producte entstehen, und dass das Nahrungsmittel verschlechtert wird. Wenn bei der Zersetzung dieselben Producte wie bei der natürlichen Verdauung gebildet werden, so ist man vielleicht anzunehmen berechtigt, dass eine solche Umsetzung, bei der nur Albumosen, Peptone und vielleicht auch einige Amidosäuren entstehen, unschädlich, bezw. nicht unnützlich sein könnte; natürlicher Weise aber nur dann, wenn diese Producte praktisch verwerthet werden könnten. Beim Pökeln wird gewöhnlich Lake gebildet, und es wäre anzunehmen, dass ein grosser Theil der Zersetzungsproducte in dieser bleibt, ohne zur Aufnahme und Ausnützung zu gelangen.

Mehrere von den genannten Zersetzungsproducten sind ziemlich schwierig nachweisbar, so dass die Methoden zu ihrem Nachweis für grössere Versuchsreihen biologischer Art sich nicht eignen, andere sind einfach nachzuweisen und genügen für praktische hygienische Zwecke. Im Folgenden sind neben Beobachtungen über Farbe, Geruch, Consistenz und Reaction Untersuchungen auf Pepton, Schwefelwasserstoff, Buttersäure, Indol, Ammoniak und Phenol und in einigen Fällen auf Tyrosin durchgeführt worden. Als Conservematerial wurde theils fettarmer Fisch (sog. Moldau-Weissfisch), theils fettfreies Rindfleisch benützt. Das Fleisch wurde in Stücken von ungefähr 1 kg gekauft, danach im Institute von Fett befreit, zerhackt, in Portionen von 50 g getheilt und mit Salz innig gemischt. Der Fisch ist auch so frisch wie möglich in Arbeit genommen worden, oft kam er noch lebend ins Institut. Er wurde angenommen und von Kopf, Flossen und Rückgrat befreit, sodann klein zerschnitten und wie das Fleisch präparirt. Durch dieses genaue Zerstücken des Materials, das eine von Anfang an möglichst gleichmässige Vertheilung des Salzes bezweckte, war zwar eine bedeutende Abweichung von dem beim Pökeln gebräuchlichen Verfahren gegeben. Da aber

Digitized by Google

nach Nothwang[1]) bei grösseren Stücken die Geschwindigkeit, mit welcher das Kochsalz eindringt, in erheblichem Maasse von der Concentration der Lake abhängt, scheint das Verfahren berechtigt zu sein. Das Kochsalz wurde immer in Substanz zugesetzt, was das einzige rationelle Verfahren ist, weil das Pökeln in der Lake einen weit grösseren Verlust an Bestandtheilen mit sich bringt als das Einlegen in Salz, wie derselbe Verfasser gezeigt hat. Das Salz wurde in dem Verhältnisse zugesetzt, dass der angegebene Procentgehalt sich auf die Gesammtmenge der fertigen Probe und nicht auf den dazu benützten Fisch oder das Fleisch bezog. Sollte z. B. eine Probe 10% Kochsalz enthalten, so wurden 45 g Fleisch mit 5 g Kochsalz gemischt. Da durch mehrfache Vorversuche (mit Strömling) festgestellt war, dass ungefähr 23% Salz die grösste Menge darstellt, die von diesem Fische gelöst werden kann, wurde die obere Grenze der Kochsalzzugabe für Fisch damit begrenzt und der Gleichmässigkeit halber auch für Rindfleisch. Als untere Grenze wurde der Gehalt von 5% genommen, der jedenfalls bedeutend niedriger ist als der irgend einer Conserve, deren Hauptconservirungsmittel das Kochsalz ist. In allen Proben wurde chemisch reines Chlornatrium und nicht Seesalz angewendet. Die abweichende Zusammensetzung dieser Waare dürfte keine grosse Rolle spielen. Nach Voit[2]) enthält das käufliche Salz ausser Chlornatrium bis 6,7% andere Bestandtheile.

Die so bereiteten Proben wurden in Glasgefässen mit gut schliessenden Stöpseln bei 25° C. aufbewahrt. Eine Verminderung des Wassergehaltes der Proben durch Verdunsten während der Beobachtungszeit ist ausgeschlossen. Die gewählte Temperatur kann nicht als zu hoch angesehen werden und wird im Sommer sicherlich auch häufig in den Speisekammern überschritten. Überhaupt kann es nur vortheilhaft sein, bei experimentellen Untersuchungen unter ungünstigeren Verhältnissen zu arbeiten, als sie in der Praxis vorkommen.

1) Nothwang, Fr., Der Salpetergehalt verschiedener Fleischwaaren und der Pökelprocess. Archiv f. Hygiene, Bd. XVI, 1893.

2) Voit, E., Ueber die Veränderung des Fleisches beim Einpökeln. Zeitschrift f. Biologie, Bd. XV, 1879, S. 493.

Digitized by Google

Für die Untersuchung auf Pepton wurde zu 50 g einer Probe unter Erwärmen so viel Ammonsulfat zugesetzt, dass beim Sieden noch ein unlöslicher Ueberschuss blieb, wonach die Masse warm filtrirt wurde. Nach Abkühlen des Filtrates und Ausscheiden der Salzcrystalle wurde die Biuretreaction angestellt. Zu dieser benützte ich 35 proc. Kalilauge, und die Probe wurde mehrmals mit verschieden grossen Zugaben von Kupfersulfat wiederholt, um einen negativen Ausfall sicher zu constatiren oder maximale Färbung bei positivem zu erhalten.

Da durch Vorproben festgestellt war, dass Ammoniak ein ziemlich reichlich vorkommendes Zersetzungsproduct ist, so mussten alle sehr empfindlichen Reactionen auf dasselbe, wie Destillation und Prüfung des Destillates mit Nessler's Reagenz verworfen werden. Auch Prüfung auf freies Ammoniak nach Zusatz verdünnter Lauge ohne Erwärmen erwies sich zu empfindlich. Anstatt dessen wurde durch Einhängen feuchten Lackmuspapieres in die Gefässe auf das Vorhandensein von spontan entwickeltem Ammoniak geschlossen.

Um Schwefelwasserstoff nachzuweisen, ist auf ähnliche Weise verfahren worden. Ein mit Bleiacetatlösung befeuchtetes Filtrirpapier wurde in das Gefäss eingehängt oder über die ganze Oeffnung desselben gelegt. Immer ist es nothwendig, durch irgend eine Manipulation den Gasen aus dem Inneren der Masse freien Austritt zu ermöglichen, ehe man sicher einen negativen Ausfall der Probe annimmt. Die Methode ist genügend empfindlich; gewöhnlich ist es gelungen, Schwefelwasserstoff nachzuweisen und zwar entweder sofort oder ein paar Tage, nachdem Stäbchen in Deckglastrockenpräparaten zu finden waren.

Um die Anwesenheit von Buttersäure zu bestimmen, wurde der sehr charakteristische Ananasgeruch des Aethylesters benützt. 50 g Fleisch- oder Fischmasse wurden mit Salzsäure sauer gemacht und destillirt; danach neutralisirte ich das Destillat mit Soda und dampfte es auf dem Wasserbade ein. Der trockne Rückstand wurde sodann mit Alkohol und Schwefelsäure versetzt.

Zur Prüfung auf Indol und Phenol (und Kresol) diente folgendes Verfahren. Eine Probe von 50 g wurde möglichst

Digitized by Google

fein zerrieben und mit Wasser bis 300—400 ccm versetzt, danach wurde Salzsäure zugegeben und die jetzt ziemlich dünne Masse destillirt, bis ungefähr 25 ccm Destillat übergegangen waren. Dieses Destillat wurde benützt, um Indol mit der Nitrosoindolreaction und Phenol (incl. Kresol) durch Zusatz von Bromwasser nachzuweisen. Der mit Bromwasser hervorgerufene Niederschlag wurde stets mikroskopisch untersucht, um die Crystallform zu constatiren. Oft, besonders im Destillat von Fisch, bekam ich mit Bromwasser einen nicht crystallinischen Niederschlag, der sich auch nicht in Crystallform bringen liess, wenn er in möglichst wenig Alkohol gelöst, nach Zusatz von wenig Wasser bis zur Lösung des Niederschlages erwärmt und wieder abgekühlt wurde.

Die Beobachtungszeit ist für die Proben, welche nur mit Kochsalz conservirt waren, auf $2^1/_2$ Monate ausgedehnt worden, was nicht zu lang, sondern eher als etwas kurz angesehen werden darf. Diese Zeit entspricht nicht völlig einem ganzen Sommer und mehrere Fischconserven, z. B. Häring und Strömling, werden nicht nur den Sommer, sondern das ganze Jahr über aufbewahrt, und auf Seereisen wird auch oft diese Zeit überschritten. In diesem Falle kommt noch dazu, dass durchaus nicht immer frisches Fleisch zum Proviant benützt wird, obwohl es so sein sollte.

Die folgenden Protokolle sind aus einem grösseren Materiale ausgelesen und mit den Angaben über das ungefähr früheste Auftreten von Pepton, Buttersäure, Indol und Phenol ergänzt.[1]) Weil eine ganze Probe, um die An- bezw. Abwesenheit dieser Stoffe zu bestätigen, verbraucht werden musste, war eine solche Ergänzung nöthig, da die Proben, welche die ganze Beobachtungszeit aufbewahrt werden sollten, für diese Untersuchungen nicht zu benützen waren. Uebrigens erforderte jede einzelne dieser Bestimmungen eine grössere Reihe Proben.

IV. Versuche mit Kochsalz.

Alle Proben von Rindfleisch und die meisten von Fisch reagirten von Anfang an sauer. In Deckglastrockenpräparaten aus den frisch bereiteten Proben konnten niemals Mikroorganis-

1) Vgl. Berliner klin. Wochenschrift, 1899, Nr. 42.

Digitized by Google

men nachgewiesen werden. Um Wiederholungen zu vermeiden, wird nur bei der Probe mit dem niedrigsten Salzgehalt das Aussehen der Masse angegeben und für die anderen die Abweichungen davon bemerkt.

I. Fisch.

1. Versuch.

5% Kochsalz. Die Masse grauweiss, fast gallertig; die Reaction schwach sauer; Geruch wie von frischem Fische; Lake ist nicht gebildet. 2 Tage. Die Consistenz fester, nicht gallertig; Deckglastrockenpräparate zeigen reichlich unregelmässig angeordnete Coccen von zwei verschiedenen Grössen und sehr wenige Stäbchen, die nach Gram nicht gefärbt werden, Nr. 7. 4 Tage. Reaction schwach alkalisch. 6 Tage. Riecht leicht faul; die Oberfläche von Bacteriencolonien und Schimmel (Penicillium glaucum) bedeckt. Schwefelwasserstoff nachgewiesen. Auf Agar sind Colonien von zwei Coccen, gelbe und weisse, fast gleich reichlich aufgegangen. 7 Tage. Ammoniak wird entwickelt. 10 Tage. Die Probe deutlich übelriechend, die Oberfläche schmierig, halbflüssig; starke Gasentwickelung. Pepton nachgewiesen. 12 Tage. Die Stäbchen beinahe so zahlreich wie die Coccen, auf Agarplatte sind Nr. 1, 2, 3 und 7 reichlich aufgegangen. Buttersäure nachgewiesen. 16 Tage. Die Oberfläche völlig flüssig, mit einem dicken Häutchen von Coccen und Stäbchen bedeckt, wogegen die Schimmelpilze fast ganz verschwunden sind. In der Tiefe sind die Fischstücke noch gut erhalten und haben eine lachsrothe Farbe bekommen. Indolreaction positiv, Phenol fehlt. 30 Tage. Die Probe intensiv übelriechend, grauroth; Consistenz weich. Auf Agarplatte sind reichlich aufgegangen Nr. 2 und Nr. 7, einzelne Colonien von Nr. 5. 55 Tage. Phenol nachgewiesen. Die Fischmasse ist sehr weich, und eine geringe Menge Flüssigkeit ist gebildet. In Deckglastrockenpräparaten sind die Coccen in geringerer Anzahl als die Stäbchen, von welchen es zwei verschiedene Sorten gibt, theils ziemlich lange Stäbchen, nach Gram nicht färbbar, theils weniger reichlich kleinere, welche nach Gram gefärbt werden. Auf Agar isolirt Nr. 2, 5, 7 und 8.

2. Versuch.

8% Kochsalz. 2 Tage. Deckglastrockenpräparate zeigen reichlich Coccen. 4 Tage. Die Oberfläche dicht besät mit weissen Coccencolonien. 6 Tage. Die Reaction alkalisch. Ammoniak wird entwickelt. Auf Agarplatte zwei Coccen Nr. 1 und 2 isolirt. 8 Tage. Die Oberfläche mit einem Häutchen, bestehend aus Coccen- und Schimmelcolonien, bedeckt, Geruch wie von altem Käse, Reaction ziemlich stark alkalisch. 11 Tage. Pepton nachgewiesen. 14 Tage. Die Oberfläche schmierig, fast halbflüssig. Deckglastrockenpräparate aus der Tiefe enthalten ausser Coccen auch wenige Stäbchen. Schwefelwasserstoff nachgewiesen; starke Gasentwickelung. 23 Tage. Buttersäureprobe positiv. 29 Tage. Die Probe stark übelriechend; Indol nachgewiesen. In Deckglastrockenpräparaten nebst Coccen ziemlich reichlich Stäbchen; auf Agarplatte Nr. 1, 2, 3, 5 und 6 isolirt. 50 Tage. Die-

Digitized by Google

selben Coccen wie früher in Agarplatte, Nr. 1 ausgenommen, und ein Stäbchen Nr. 8. Phenolprobe negativ. 75 Tage. Die Probe stinkt intensiv nach Ammoniak, Buttersäure und Merkaptan. Die Oberfläche ist von einem dicken, schmierigen, aus Coccen und Stäbchen bestehenden Häutchen bedeckt. Eine unbedeutende Menge Flüssigkeit ist gebildet; die Fischstücke sind ziemlich gut erhalten, lachsfarbig. In Deckglastrockenpräparaten sind Coccen und Stäbchen fast gleich zahlreich, jene gewöhnlich unregelmässig angeordnet, bisweilen in kurzen Ketten. Die Stäbchen färben sich nach Gram, sind theils ziemlich lang und mässig dick, theils kürzer und ein wenig dicker, oft in Haufen. Phenol nachgewiesen, die Reaction ist aber sehr schwach. Auf Agar sind Coccen Nr. 2, 3, 5 und 6 und ein Stäbchen Nr. 10 aufgegangen.

3. Versuch.

10% Kochsalz. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten nur wenige Coccen. 6 Tage. Auf der Oberfläche zahlreiche Coccencolonien und Schimmelpilze; Deckglaspräparate zeigen jetzt reichlich Coccen. 8 Tage. Der Geruch erinnert an den gewisser alter Käsesorten, ist nicht faulig. 10 Tage. Die Reaction alkalisch; Ammoniak wird entwickelt. Durch Agarplatte isolirt Nr. 1 und 2, fast gleich reichlich. 14 Tage. Die Oberfläche schmierig, starke Gasentwickelung. 23 Tage. Buttersäure nachgewiesen. 26 Tage. Einzelne Stäbchen werden in Deckglaspräparaten gefunden; Schwefelwasserstoffprobe negativ. 28 Tage. Schwefelwasserstoff wird entwickelt. 30 Tage. Pepton nachgewiesen, Indol abwesend. In Agarplatte sind Coccen Nr. 2 und 3 und Stäbchen Nr. 9 isolirt. 50 Tage. Die Probe stark übelriechend, Consistenz weich, nicht allzu wenig Flüssigkeit ist gebildet, in welcher in einer Probe weisse Körnchen, die aus Stäbchenanhäufungen bestehen, schwimmen; Schimmel ist verschwunden. Die Stäbchen, die wahrscheinlich alle einer Art angehören, färben sich nach Gram und zeigen sehr wechselnde Formen; theils sind sie lange Fäden, theils Kurzstäbchen; oft sind sie gebogen, bisweilen spiralig. Auf Agarplatte sind Nr. 3, 4 und 10 isolirt. 68 Tage. Indol nachgewiesen. 75 Tage. Die Masse noch weicher. Probe auf Phenol negativ ausgefallen[1]). Auf Agar sind dieselben Organismen wie früher isolirt und daneben auch einzelne Colonien von Nr. 6.

4. Versuch.

12% Kochsalz. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten nur einzelne Coccen. 6 Tage. Eine kleine Menge Lake ist gebildet, auf der Oberfläche reichlich Coccencolonien; die Coccen sind in Präparaten sehr reichlich, auch sind einige Hefen zu sehen. 12 Tage. Unangenehmer Geruch; die Reaction alkalisch, Ammoniak wird entwickelt; in den tieferen Theilen der Probe reichlich Gasblasen. In Agarplatte Coccen Nr. 2 und 3 isolirt. 30 Tage. Auf der Oberfläche, die missfarbig und schmierig ist, kommen auch Schimmelcolonien vor. In Agarplatte Coccen Nr. 3 und 4. 48 Tage. Riecht wie

1) Ein Mal wurde Phenol in einer 10proc. Fischprobe gefunden. In allen übrigen Fällen fehlte es.

Digitized by Google

verdorbener Käse; die Oberfläche halbflüssig. Nur Coccen. 52 Tage. In Deckglaspräparaten wenige Stäbchen; Buttersäure nachgewiesen. Auf Agarplatten ist nur der Coccus Nr. 3 reichlich aufgegangen. 58 Tage. Die Probe ist sehr übelriechend von Buttersäure, Ammoniak und Merkaptan; Schwefelwasserstoff wird entwickelt, Pepton nachgewiesen; auf Agarplatten ausser Coccen einzelne Colonien von einem Stäbchen Nr. 11 aufgegangen. 75 Tage. Die Probe ziemlich fest, die einzelnen Fischstücke gut erhalten, lachsfarbig; nicht allzu wenig Flüssigkeit ist gebildet. In Deckglastrockenpräparaten nebst Coccen reichlich mässig dicke Stäbchen von sehr variirender Form, bisweilen sind sie auch verzweigt; färben sich nach Gram. Indolreaction positiv, Phenol abwesend. Auf Agar sind Coccen Nr. 3, 4, 5 und Stäbchen Nr. 10 und 11 aufgegangen.

5. Versuch.

15% Kochsalz. 2 Tage. Kleine Menge Lake ist gebildet, die Masse sehr fest. 14 Tage. Der Geruch schwach süsslich; Deckglastrockenpräparate enthalten reichlich hefeähnliche Organismen, die sich in Würzegelatineplatten isoliren lassen, Nr. 13, und wenige Coccen. Auf Agar sind Nr. 3 und 4 aufgegangen. 34 Tage. Hefen und Coccen sehr zahlreich; auf der Oberfläche auch Schimmelcolonien. 34 Tage. Reaction alkalisch, der Geruch leicht ranzig. Auf der Oberfläche ein Belag von Coccen- und Hefencolonien. In Platten dieselben Organismen wie früher. 75 Tage. Der Geruch wie früher, die Farbe schmutzig rosa; Buttersäure und Pepton nachgewiesen. In Platten dieselben Hefen und Coccen wie früher.

6. Versuch.

18% Kochsalz. 2 Tage. Reichlich Lake; die Consistenz der Probe sehr fest. 15 Tage. Ziemlich reichlich Hefen und Coccen. 30 Tage. In Platten fast gleich zahlreich Coccen Nr. 3 und 4. Auf Würzegelatine Nr. 13. 60 Tage Der Geruch uncharakteristisch, nicht unangenehm, die Reaction alkalisch. In der Lake schwimmen einige Schimmelcolonien. 75 Tage. Die Consistenz sehr fest, die Farbe grauroth, der Geruch wie von eingepökeltem, leicht ranzigem Fische. In Präparaten von der Oberfläche reichlich Hefen und Coccen, aus der Tiefe bedeutend weniger zahlreich, besonders die Hefen. In Agarplatten Nr. 3 und 4 Buttersäure nachgewiesen. Peptonprobe negativ.

7. Versuch.

20% Kochsalz. 36 Tage. Eine bedeutende Menge Lake ist gebildet, keine Mikroorganismen. 50 Tage. Präparate halten nur einzelne Coccen und Hefen. 75 Tage. Geruch nicht unangenehm, nach eingesalzenem Fische, nicht nach Häring oder Käse. Die Fischstücke sehr fest, schwach grau-rosa gefärbt. Probe auf Pepton und Buttersäure negativ. Auf Agar Coccen Nr. 3 und 4 aufgegangen.

8. Versuch.

23% Kochsalz. Nach 75 Tagen sind in Deckglastrockenpräparaten noch keine Mikroorganismen zu finden, und auf Platten gehen nur wenige Colonien von verschiedenem Aussehen auf.

Digitized by Google

II. Rindfleisch.

9. Versuch.

5 % Kochsalz. Die Fleischmasse hell rothbraun, wenig dunkler als das frische Fleisch, dessen charakteristischen Geruch sie besitzt; die Consistenz ziemlich fest, zäh; keine Lake. 2 Tage. Farbe dunkler, der Geruch schwach süsslich, Deckglastrockenpräparate enthalten reichlich Coccen in unregelmässiger Anordnung, wenige Stäbchen und Hefen. 6 Tage. Die Probe übelriechend; Schwefelwasserstoff wird entwickelt; auf der Oberfläche äusserst zahlreiche Coccencolonien. 7 Tage. Die Reaction alkalisch, Ammoniakprobe positiv; auf der Oberfläche auch einige Schimmelcolonien. 10 Tage. Buttersäure nachgewiesen. Auf Agar lassen sich Coccen Nr. 3 und 4, Stäbchen Nr. 7 und 12 isoliren. 15 Tage. Die oberen Theile der Fleischmasse sind grün gefärbt. Präparate sowohl von der Oberfläche als von der Tiefe zeigen ausser Coccen ziemlich reichlich kurze Stäbchen, die sich nach Gram nicht färben. 26 Tage. Die Probe ist intensiv übelriechend, von Glasblasen durchsetzt, schwarzgrün und sehr weich. Die mit HCl sauer gemachte Masse riecht stark nach Buttersäure. Indol nachgewiesen. Auf Agarplatte lassen sich Nr. 6, 7 und 9 isoliren. 50 Tage. Riecht stark nach Ammoniak und faulem Käse; auf Agarplatte gehen der Coccus Nr. 6 und das Stäbchen Nr. 9 auf. 75 Tage. Das Aussehen ungefähr wie früher. Probe auf Phenol negativ. Deckglaspräparate zeigen fast nur lange, ziemlich schmale Stäbchen, färbbar nach Gram. Auf Agar fast nur die früher genannten Organismen aufgegangen.

10. Versuch.

8 % Kochsalz. 2 Tage. Geruch schwach süsslich; Deckglastrockenpräparate enthalten reichlich Coccen und wenige Hefen. Auf der Oberfläche punktförmige Coccencolonien. 9 Tage. Die Oberfläche von einem Häutchen, bestehend aus Coccen- und Schimmelcolonien, bedeckt; Reaction alkalisch. In Deckglaspräparaten sind äusserst reichlich Coccen, wenig Stäbchen und Hefen; Ammoniak nachgewiesen; Schwefelwasserstoffprobe negativ. 12 Tage. Schwefelwasserstoff wird entwickelt; die obersten Theile sind graugrün, missfarbig; Geruch wie von altem Käse. Hefen fast ganz verschwunden. Auf Agar lassen sich die Coccen Nr. 1 und 2 isoliren. 17 Tage. Buttersäure nachgewiesen. 20 Tage. Pepton nachgewiesen. 30 Tage. In Präparaten reichlich Coccen, theils in kurzen Ketten, theils unregelmässig; spärliche Stäbchen. Auf Agar sind die vorigen Coccen und Nr. 6 isolirt. 50 Tage. Die Probe übelriechend, Consistenz weicher als anfangs, besonders in den oberflächlichen Theilen; auf der fast flüssigen Oberfläche schwimmen einige Schimmelcolonien. Auf Agar dieselben Coccen wie früher isolirt. 75 Tage. Die Consistenz noch weicher. In Präparaten sehr reichlich Stäbchen, fast zahlreicher als Coccen. Die Stäbchen zeigen variirende Formen und Grösse, sind oft verzweigt und kolbig verdickt, färben sich nach Gram. Indol nachgewiesen. Auf Agar sind neben den Coccen Nr. 1 und 6 wenige Colonien von dem Stäbchen Nr. 9 aufgegangen.

Digitized by Google

11. Versuch.

10% Kochsalz. 2 Tage. Wenige Coccen. 4 Tage. Geruch süsslich, reichlich Coccen, wenige Hefen. 8 Tage. Riecht wie Käse, die Oberfläche dicht besät mit Coccencolonien. 9 Tage. Reaction alkalisch. 12 Tage. Ammoniakentwickelung. Auf Agar Coccen Nr. 1 und 2 isolirt. 20 Tage. Oberfläche mit einem Häutchen von Coccen und auch Schimmel bedeckt. Buttersäure nachgewiesen. 30 Tage. Probe auf Pepton positiv. Auf Agar dieselben Coccen aufgegangen. 36 Tage. Der Geruch unangenehm; nebst Coccen auch Stäbchen; Hefen fast verschwunden; Schwefelwasserstoffprobe negativ. 40 Tage. Schwefelwasserstoffentwickelung. 50 Tage. Die Probe stark übelriechend, Oberfläche schwarzgrün, reichliche Gasentwickelung In Deckglaspräparaten überwiegend Coccen. Auf Agar sind Nr. 1, 2, 3 und 6 isolirt. 75 Tage. Die Probe stinkt intensiv; nach Zusatz von HCl starker Buttersäuregeruch; Consistenz der obersten Theile halbflüssig. In Deckglastrockenpräparaten ausser Coccen auch ziemlich reichlich dicke Stäbchen, färben sich nach Gram, und seltener einige schmalere, nach Gram nicht färbbare. Spur von Indol nachgewiesen; Probe auf Phenol negativ. Auf Agar lassen sich Nr. 1, 3 und 6 isoliren.

12. Versuch.

12% Kochsalz. 2 Tage. Keine Mikroorganismen. 4 Tage. Deckglaspräparate enthalten sehr spärlich Coccen. 8 Tage. Die Oberfläche voll von gelblichen und weissen Coccencolonien. Auf Agar sind die Coccen Nr. 1 und 3 isolirt. 15 Tage. Auf der Oberfläche auch Schimmelcolonien; Reaction alkalisch. 20 Tage. Ammoniakentwickelung. 26 Tage. Pepton und Buttersäure nachgewiesen. Auf Agar sind dieselben Coccen wie früher aufgegangen. 50 Tage. Geruch wie von dumpfigem Fleische. In Präparaten sehr reichlich Coccen unregelmässig in Haufen, wenige Hefen. Coccen Nr. 1 und 3 sind isolirt. 75 Tage. Consistenz fest, Farbe ziemlich dunkel rothbraun, Geruch unangenehm. Keine Lake. Keine Stäbchen. Proben auf Schwefelwasserstoff und Indol negativ. Das Destillat übelriechend. Auf Agar sind Nr. 3 und 6 isolirt.

13. Versuch.

15% Kochsalz. 2 Tage. Eine kleine Menge Lake gebildet. Keine Organismen. 7 Tage. Präparate enthalten Coccen und Hefen, diese wenig zahlreich. 10 Tage. Geruch süsslich; auf Agar Nr. 4, auf Bierwürzegelatine Nr. 13 isolirt. 20 Tage. Reaction alkalisch. 35 Tage. Geruch süsslich, aber auch an Pökelfleisch erinnernd. Pepton nachgewiesen. Coccen und Hefen sind beide sehr zahlreich. Auf der Oberfläche ein Häutchen, bestehend aus Coccen-, Hefen- und Schimmelcolonien. 45 Tage. Buttersäure nachgewiesen. Coccen Nr. 3, 4 und 6 isolirt. 75 Tage. Ammoniakentwickelung. Consistenz fest, Farbe rothbraun. Einige Proben riechen nach fauler Presshefe, andere nach altem Pökelfleisch. In den tiefsten Schichten sind die Coccen und Hefen viel weniger zahlreich als in den obersten. Auf Agar sind die Coccen Nr. 3 und 6 aufgegangen.

Digitized by Google

14. Versuch.

18% Kochsalz. 2 Tage. Das Fleisch sehr fest, ziemlich reichlich Lake. 10 Tage. Geruch wie anfangs. In Deckglaspräparaten wenige Coccen und Hefen. 18 Tage. Reichlich Coccen und Hefen. Geruch wie von Pökelfleisch, aber auch süsslich. 30 Tage. Probe auf Pepton negativ. In den tiefsten Theilen der Probe sind sehr wenige Organismen. 50 Tage. Auf Agar sind die Coccen Nr. 3 und 4 aufgegangen. 60 Tage. Die Reaction amphoter. 75 Tage. Reaction immerfort amphoter, keine Ammoniakentwickelung. Fleischmasse fest, in den oberen Schichten rothbraun, in den tieferen grauroth, Geruch wie früher. Buttersäure und Spuren von Pepton nachgewiesen. Das Destillat kaum übelriechend.

15. Versuch.

20% Kochsalz. 6 Tage. Fleischmasse sehr fest, hat sich von den Gefässwänden zusammengezogen; reichlich Lake. 32 Tage. Spärlich Hefen und Coccen in Deckglaspräparaten. 50 Tage. Auf Agar ist Nr. 4 aufgegangen, aber auch viele andere Colonien von sehr verschiedenem Aussehen. 75 Tage. Reaction sauer, die Probe ist hell rothbraun und hat einen gar nicht unangenehmen Geruch nach Pökelfleisch. In den obersten Schichten wenige Coccen und Hefen, in den tieferen keine. Proben auf Pepton und Buttersäure gewöhnlich negativ.

16. Versuch.

23% Kochsalz. 29 Tage. Die Fleischmasse von demselben Aussehen wie das der vorigen Probe, noch reichlichere rothe, klare Lake. Nicht allzu wenige Coccen und Hefen. Auf Agar sind Colonien von fast nur einer Sorte aufgegangen, Nr. 6. (Platten von anderen Proben enthielten dagegen oft viele verschiedene, wie Nr. 15.) Bisweilen sind kleinere Mengen ungelösten Kochsalzes auf dem Boden des Gefässes zu sehen.

Beschreibung der aus den Versuchsproben isolirten Organismen.

Nr. I. Ziemlich kleine, 0,6 μ grosse Coccen, rund oder leicht oval, mit Theilungslinie, gewöhnlich unregelmässig angeordnet in Haufen, bisweilen zu zweien oder dreien.

Colonien auf Gelatineplatte sind nach 5 Tagen ungefähr 1 mm gross, gelb-orange, rund, flach, eingesenkt mit ziemlich breiter Verflüssigungszone. Später zerfallen die Colonien. Bei 60facher Vergrösserung tiefe Colonien dunkel-orange, rund, glattrandig; aufliegende grobkörnig, nicht völlig glattrandig, der Rand orange, die Mitte dunkelgelb. In Gelatinestich fängt die Verflüssigung nach 2 Tagen an und schreitet strumpf- oder trichterförmig rasch weiter. Auf der Oberfläche der flüssigen Gelatine

Digitized by Google

und am Boden des Schlauches gelbe Massen von Coccen. Auf Agarplatte Oberflächencolonien rund, flach, gelb-orange, feucht, tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert aufliegende Colonien grobkörnig mit dünnem, nicht scharfem, durchscheinenden Rande und gelber Mitte; tiefe Colonien unregelmässig, oft oval, feinkörnig, bisweilen nicht völlig glattrandig. Agarstrich: Mässig dicker, schmutziggelber oder gelb-oranger Belag. Auf alkalischer Kartoffel ziemlich dicker und breiter, schmutziggelber oder gelb-oranger, feuchter und glänzender Belag. Auf saurer Kartoffel ist das Wachsthum nicht so ausgiebig und mehr reingelb. Bouillon wird getrübt. Bodensatz leicht zertheilbar. Milch gerinnt nach ungefähr einer Woche, später scheint das Coagulum langsam theilweise gelöst zu werden. Die Reaction wird leicht alkalisch. Wächst am besten aërob. Das Wachsthum wird durch kleineren Salzzusatz nicht sehr bedeutend gehemmt. Wächst auch in Bouillon mit 20% Kochsalz, zähen Bodensatz und Trübung hervorrufend.

Vergährt nicht Traubenzucker und bildet keinen Schwefelwasserstoff.[1]) Bildet kleine Mengen Buttersäure. Wird das Destillat von älteren (3 Wochen alten) Bouilloncultureu mit Alkohol und Schwefelsäure versetzt, ist Ananasgeruch deutlich zu bemerken. Doch werden wahrscheinlich auch andere flüchtige Säuren gebildet, weil der Geruch nicht rein ist.

In mehreren Beziehungen ist der Coccus dem Staphylococcus aureus ähnlich, doch wird die Farbe nie so schön orangegelb. Um die Pathogenität zu untersuchen, wurden 4 ccm Bouilloncultur einem Kaninchen subcutan injicirt. Die injicirte Cultur war am zweiten Tage resorbirt, und ein Abscess wurde nicht hervorgerufen. Einem zweiten Kaninchen wurden 5 ccm der Aufschwemmung einer Agarcultur in sterilisirter Bouilloncultur von Proteus subcutan injicirt. Am zweiten Tage war an der Injectionsstelle eine ziemlich grosse ödematöse Anschwellung entstanden. Diese wurde am vierten Tage aseptisch eingeschnitten. Eiter

1) Die Untersuchung auf Schwefelwasserstoffbildung ist nach der von Morris (Archiv f. Hygiene, Bd. XXX) angegebenen Weise ausgeführt worden.

Digitized by Google

war nicht zu finden und aus der Oedemflüssigkeit gingen auf schrägem Agar keine Colonien auf. Für Kaninchen scheint dieser Coccus keine pathogenen Eigenschaften zu besitzen und ist also mit dem Staphylococcus aureus wahrscheinlich nicht identisch.

Nr. II. Mittelgrosse, 1 μ-Coccen, rund oder schwach länglich.

Auf Gelatineplatte rein weisse, nach 4 Tagen 0,5 mm grosse, wenig eingesenkte, runde Colonien. Vergrössert tiefe Colonien glattrandig, äusserst dunkel, aufliegende grau, grobkörnig mit zerfliessendem Rande. Gelatinestich fast völlig wie bei Nr. 1, aber die Farbe des Bodensatzes und der schwimmenden Masse weiss. Auf Agarplatte aufliegende Colonien nach 2 Tagen 1,5 mm gross, rund, flach, grauweiss, tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert: Oberflächencolonien grau, grobkörnig mit dünnem, fast glattem Rande, tiefe Col. rund oder oval, nur feinkörnig, Rand leicht rauh. Auf schrägem Agar rein weisser, glänzender, ziemlich dünner Belag. Condenswasser klar. Auf alkalischer Kartoffel mässig dicker, bisweilen schwach glänzender, trockener, grauweisser oder gelblichweisser Belag von ziemlich fester Consistenz. Bouillon wird getrübt, Bodensatz leicht zertheilbar. Milch gerinnt nach längerem Stehen, und das Gerinnsel wird langsam theilweise gelöst. Reaction schwach alkalisch.

Verhält sich bei Salzzusatz zu den Nährböden wie Nr. 1.

Wächst am besten aërob. Vergährt nicht Traubenzucker und bildet keinen Schwefelwasserstoff.

Nr. III. Stimmt in fast allen Beziehungen mit Mikrococcus candicans überein. Wächst bei Salzzusatz zu den Nährböden ebenso gut wie die zwei vorigen.

Nr. IV. Ziemlich kleine, etwa 0,7 μ grosse, runde Coccen in unregelmässiger Anordnung oder kurzen Ketten.

Auf Gelatineplatte flache, gelbe, runde Oberflächencolonien; vergrössert: aufliegende Colonien, durchscheinend, rein gelb, feinkörnig, mit verdünntem, glatten Rande. Tiefe Colonien noch feinkörniger. Auf schräger Gelatine flacher, ziemlich breiter, glatter und glänzender, wenig feuchter, weissgelber oder in der Mitte hellschwefelgelber Belag. Rand wellig oder fast glatt. In

Digitized by Google

Gelatinestich gutes Wachsthum in dem Stiche und auf der Oberfläche. Nach 2 Wochen tritt Verflüssigung ein, die sehr langsam horizontal weiter schreitet. Auf Agar aufliegende Colonien nach 2 Tagen 1 mm gross, rund, flach, feuchtglänzend, weiss oder gelbweiss; tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert: Oberflächencolonien gelbgrau, ziemlich grobkörnig, mit verdünntem, bisweilen nicht völlig glattem Rande. Tiefe Colonien dunkel, oft oval. Auf schrägem Agar mässig dicker, flacher, zäher, gelbweisser, glänzender Belag. Condenswasser klar. Auf alkalischer Kartoffel ziemlich dicker und breiter, sahnenähnlicher, glänzender, gelbweisser Belag von Butterconsistenz. Auf saurer Kartoffel unbedeutender, weisser Belag. Bouillon wird getrübt und geringer, fadenziehender, schwer zertheilbarer Bodensatz gebildet. Milch wird schwach sauer, coagulirt jedoch gewöhnlich nicht, beim Aufkochen gerinnt sie sofort.

In Bouillon mit 20% Kochsalz ist das Wachsthum noch sehr ausgiebig. Die Bouillon wird getrübt, und zäher, schwer zertheilbarer Bodensatz wird gebildet.

Nr. V. Am besten anaërob wachsender Streptococcus und Nr. VI aërob und anaërob gleich gut vegetirender Staphylococcus ohne Farbstoffproduction. Verflüssigt nicht Gelatine.

Nr. VII. Kurze, gegen 1,0 μ lange, ziemlich dicke Stäbchen, die kräftige Eigenbewegungen zeigen. Bisweilen sind sie zu zweien angeordnet, in alten Bouilloncultureu kommen selten Ketten von sechs und mehreren Individuen vor. Wird nach Gram entfärbt.

In Gelatineplatte tritt Verflüssigung rasch ein, so dass auch nur punktförmige Colonien in einer tiefen, bläulichen Schale liegen. Vergrössert sind die kleinsten Colonien glattrandig, feingekörnt; die grösseren haben grobkörniges Centrum, eine äussere helle, faserige Zone und einen breiten, schönen Strahlenkranz. Auch grössere Colonien, deren Mitte zu einer flüssigen, uncharakteristischen Masse zerfallen ist, zeigen oft diesen Strahlenkranz. In Gelatinestich rasche Verflüssigung, oft cylindrisch im ganzen Stichcanale mit wolkenförmigem Bodensatz; bisweilen schreitet die Verflüssigung horizontal weiter. Colonien auf Agar

Digitized by Google

sind denen der Gelatineplatte ähnlich. Vergrössert: tiefe Colonien gelb, uneben, mit haarigem Rande, oberflächliche mit ähnlichem Centrum und einer dünnen, breiten, gelappten äusseren Zone. Auf schrägem Agar jünger: dünner, durchscheinender, älter: weisslicher, feuchter, glänzender Belag, der rasch die Oberfläche überzieht. Condenswasser trüb, Bodensatz. Auf Kartoffel graugelber, wenig feuchter Belag mit verdünntem Rande. Kartoffel missfarbig. Milch wird peptonisirt, bisweilen nach voriger Coagulation. Bouillon wird stark getrübt, kein Häutchen, wenig Bodensatz.

Auch bei einem Zusatz von 5% Kochsalz zu dem Nährboden ist das Wachsthum gut, wird aber 8% zugesetzt, so bleibt das Wachsthum fast regelmässig aus.

Traubenzucker wird vergohren. Bildung von Indol und grossen Mengen Schwefelwasserstoff finden statt auch in Nährböden mit 5% Kochsalz.

Die Charaktere stimmen mit denen des Bacillus punctatus Zimmermann[1]) gut überein.

Nr. VIII. Abgestutzte, 3 μ und mehr lange, bis 1,0 μ breite Stäbchen. Bildet Sporen. Diese sind oval, mittelständig, im freien Zustande dicker als die Stäbchen. Hat Eigenbewegung; färbt sich nach Gram.

Gelatineplatte. Vergrössert sind kleinere punktförmige Colonien wie ein Gewirr von Spinnengewebefäden. Bisweilen haben sie dickere, radiäre Ausläufer. Die grösseren sind rund, eingesenkt, mit faserigem Centrum und regelmässigem Strahlenkranz. Gelatinestich ist anfangs aus kleinen Pünktchen zusammengesetzt mit schalenförmiger Verflüssigung, die später strumpfförmig wird. Keine Aestchen. Auf der flüssigen Gelatine dickes, oft faltiges Häutchen. Auf Agarplatte oberflächliche Colonien dünn, durchscheinend, unregelmässig gelappt oder mit Ausläufern versehen; vergrössert grau, grobgekörnt, mit unregelmässigem Rande oder grossen Ausläufern. Tiefe Colonien oft oval, anfangs glattrandig, später faserig. Auf schrägem Agar ziemlich dünner

1) Zimmermann, W., Bacterien unserer Trink- und Nutzwässer etc., Chemnitz 1890.

Digitized by Google

und durchscheinender, später weisslicher, ausgebreiteter, bisweilen faltiger, fettähnlicher Belag. Condenswasser fast klar mit Bodensatz und derbem Häutchen. Auf Kartoffel dicker, grauweisser, stark faltiger und runzeliger Belag, der fast die ganze Kartoffeloberfläche überzieht. Die Erhebungen bilden oft netzförmige Zeichnungen. Bouillon wird leicht getrübt; dickes, älter faltiges Häutchen, das beim Schütteln zusammenklebt und auf den Boden sinkt, wonach ein neues Häutchen sich bilden kann. Milch wird coagulirt, später langsam verflüssigt.

Ist gegen Kochsalz wenig empfindlich, in Bouillon mit 10proc. Kochsalz ist das Wachsthum ausgiebig, wird aber der Kochsalzgehalt auf 15% erhöht, kommt er gewöhnlich nicht weiter.

Der Organismus ist überwiegend aërob; er bildet grosse Mengen Schwefelwasserstoff, aber vergährt nicht Traubenzucker und bildet in Peptonbouillon kein Indol.

Stimmt völlig mit Bacillus mesenterius vulgatus Flügge überein (s. Tabelle S. 204).

Nr. IX. Lange, 4 μ und mehr, schlanke, bisweilen gekrümmte Stäbchen, die zu langen Fäden vereinigt sind, welche, mit einander verfilzt, sehr zähe Massen bilden. Hat Eigenbewegung und färbt sich nach Gram. Sporenbildung nie beobachtet.

Auf Gelatineplatte sind die Colonien nach 10 Tagen 1 mm gross, bläulich durchscheinend, wenig eingesenkt. Vergrössert gleichen die grösseren verfilzten Strähnen mit aus korkzieherähnlichen Fäden zusammengesetzten Ausläufern; die grösseren haben faseriges Centrum mit regelmässig strahligem Rande. In Gelatinestich langsam strumpfförmige Verflüssigung ohne Aestchen. Auf Agarplatte grössere aufliegende Colonien dünn, durchscheinend bläulich, mit weissem dickerem Centrum und gezähntem Rande. Tiefe Colonien unregelmässig, borstig. Vergrössert sind die tiefen Colonien gelb, grobkörnig, wie aus kleineren, oft glattrandigen Schollen zusammengesetzt, mit langen, ebenso gebauten Ausläufern. Aufliegende Colonien haben ähnliches Centrum und eine breite, dünne, grobkörnige, lappige äussere Zone. Auf schrägem Agar dünner, durchscheinender, dem Nährboden stark

Digitized by Google

anhaftender Belag. Condenswasser klar. Auf Kartoffel schlechtes Wachsthum, dünner, grauweisser, feuchter Belag. Bouillon wird leicht getrübt, zäher Bodensatz. Scheint in Milch sich nur unbedeutend zu vermehren und weder die Reaction noch das Ansehen wird verändert.

Ist gegen Kochsalz wenig empfindlich; Bouillon mit 15% Kochsalz wird nach einigen Tagen getrübt, und zäher, sehr schwer zertheilbarer Bodensatz wird gebildet.

Bildet grosse Mengen Schwefelwasserstoff, vergährt aber nicht Traubenzucker und scheint in Peptonbouillon kein Indol zu bilden.

Der Organismus ist in mehreren Beziehungen dem Bacillus Megatherium ähnlich, von dem er jedoch dadurch abweicht, dass er wahrscheinlich keine Sporen bildet und auf Kartoffel und in Milch schlecht wächst.

Nr. X. Kurze, bis 1,0 μ, selten längere, mässig dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden. Bisweilen zu je zwei angeordnet. Hat Eigenbewegung und färbt sich nach Gram.

Colonien auf Gelatineplatte rund, leicht erhaben, grauweiss; vergrössert gelblich, feinkörnig, scharfrandig und oft concentrisch geschichtet. Wächst in Gelatinestich langsam sowohl im Stichcanal als auf der Oberfläche mit dünnem, durchscheinenden wenig ausgebreiteten Belag. Keine Verflüssigung. Auf Agarplatte runde, graugelbe, im durchfallenden Licht bläuliche Colonien; vergrössert auch glattrandig, grobkörnig. Auf schrägem Agar dünner, grauweisser oder bläulicher, durchscheinender Belag. Condenswasser klar mit schleimigem Bodensatz. Auf Kartoffel schmutziggelber, nicht sehr dicker, zäher Belag, der der Kartoffel sehr fest anhaftet. Bouillon wird gleichmässig getrübt; Bodensatz gering. Milch wird schwach sauer, aber coagulirt nicht.

Das Stäbchen wächst am besten aërob. Ist gegen Kochsalz sehr wenig empfindlich; überimpft man es aus gewöhnlicher Bouillon in solche mit 15% Kochsalz, ist sie schon nach drei Tagen ziemlich stark getrübt.

Digitized by Google

Bildet langsam kleine Mengen Schwefelwasserstoff. Traubenzucker wird nicht vergohren und in Peptonbouillon kein Indol gebildet.

Nr. XI. Mässig dicke Stäbchen mit bedeutend variirender Länge, von ca. 2,0 μ bis 8,0 μ. Bisweilen bilden sie lange zergliederte Fäden. Hat langsame, wiegende Eigenbewegung. Färbt sich nach Gram.

Auf Gelatineplatte ist das Wachsthum sehr langsam. Nach 12—14 Tagen sind aufliegende Colonien höchstens 1 mm gross, wie dünne blaue Häutchen mit unregelmässigem Umkreis. Vergrössert graugelb, grobkörnig oder chagrinirt, mit dünnem, ungefärbten, zackigen Rande. Tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert gelb, feinkörnig, glattrandig. Im Gelatinestich langsames Wachsthum im Stichcanal und auf der Oberfläche, wo ein bläulicher, lappiger, nicht sehr dicker Belag entsteht. Nach langer Zeit entsteht bisweilen unbedeutende Verflüssigung. Selten entstehen im Stich abstehende Aestchen. Auf Agarplatte wächst das Stäbchen auch sehr langsam. Nach einer Woche sind die Colonien nur punktförmig. Vergrössert sind die tiefen anfangs grossgekörnt, rundlich und ziemlich glattrandig, später werden sie besonders am Rand verfilzten Fasern ähnlich. Die grösseren Oberflächencolonien haben ein ähnliches Centrum und eine dünne, faserige äussere Zone. Auf schrägem Agar nicht sehr breiter, dünner, durchscheinend bläulicher Belag. Condenswasser klar mit unbedeutendem Bodensatz. Auf Kartoffel findet kein Wachsthum statt. Bouillon wird anfangs getrübt, später bildet sich Bodensatz. Milch wird nicht verändert.

Der Organismus ist gegen Kochsalz wenig empfindlich, wächst noch in Bouillon mit 12% Kochsalz. 10% Kochsalzbouillon wird in 2—3 Tagen stark getrübt, und die Stäbchen sind gut beweglich. 15% Kochsalz genügt in der Regel, um sein Wachsthum zu hemmen. In gewöhnlicher Bouillon wächst er meistens nicht viel besser als in Bouillon mit 5 und 10% Kochsalz.

Bildet weder Schwefelwasserstoff noch Indol in Peptonbouillon und vergährt Traubenzucker nicht.

Digitized by Google

Nr. XII. Kurze Stäbchen von ca. 1,0 u, bisweilen auswachsend zu langen Fäden. Hat langsame Eigenbewegung. Wird nach Gram entfärbt.

Oberflächencolonien auf Gelatine dünn, graugelb, im durchfallenden Licht bläulich, die grösseren oft nicht völlig rund. Bei einer Grösse von 1 mm sind sie leicht eingesenkt. Tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert sind tiefe und kleinere aufliegende Colonien graugelb, feinkörnig, mit glattem, dünnen Rande; grössere aufliegende haben chagrinirte Oberfläche und gleichwie von dünnen, stumpfen Stacheln in mehrfachen Schichten gebildeten Rand. In Gelatinestich reichliches Oberflächenwachsthum; nach einiger Zeit tritt Verflüssigung ein und schreitet horizontal langsam weiter. Auf der flüssigen Gelatine schwimmt ein dicker, weissglänzender Belag. Auf Agarplatte aufliegende Colonien rund, runderhaben, bläulich, tropfenähnlich; vergrössert feinkörnig, in der Mitte gelb, gegen den glatten Rand zu mehr und mehr farblos. Tiefe Colonien punktförmig; vergrössert gelb, oft wetzsteinförmig, glattrandig, feinkörnig. Auf schrägem Agar anfangs dünner, durchscheinender, später mehr dicker, grauweisser, feuchter, weicher Belag, der fast die ganze Oberfläche überzieht. Auf alkalischer Kartoffel schmutziggelber, feuchter Belag. Bouillon wird leicht getrübt mit fadenförmigem Bodensatz. Milch wird leicht angesäuert, gerinnt aber erst beim Aufkochen.

Ist gegen Kochsalz ziemlich empfindlich; im Nährboden mit 10% Kochsalz ist das Wachsthum völlig aufgehoben, wächst aber bei 5% noch gut.

Bildet Schwefelwasserstoff und sehr wenig Gas aus Traubenzucker, aber scheint nicht Indol in Peptonbouillon zu bilden.

Stimmt ziemlich gut mit Bacillus guttatus Zimm.[1]) überein.

Nr. XIII. Die Zellen des Hefepilzes sind immer klein, 2,5—5,0 μ, gewöhnlich rundlich, besonders fast immer in flüssigen Nährmedien. Auf Thonblock werden sie bisweilen läng-

1) Zimmermann, W., a. a. O.

Digitized by Google

lich. Die Grösse wird nicht bedeutend von verschiedenen Salzconcentraten des Nährbodens beeinflusst. Der Zellkörper, der ziemlich homogen ist, zeigt mehr oder weniger central ein helleres Feld, in dem ein stark lichtbrechender Tropfen zu sehen ist. Sehr deutlich tritt diese Structur in Präparaten aus Culturen auf Eierscheiben oder Thonblöcken hervor. In Präparaten von den letzteren findet man zuweilen 5—6 Tropfen in grossen Riesenzellen. Nach Behandlung mit Aether und Alkohol, Chloroform oder Essigsäure sind sie noch zu sehen, wenn auch nicht völlig so deutlich wie früher. Von Osmiumsäure wird der Tropfen, von einem kleinen Pünktchen abgesehen, nicht geschwärzt, und bei Färben mit Anilinfarben markirt er sich nicht von dem übrigen Zellkörper. Im hängenden Tropfen sind die Zellen zu Haufen von 3—6 Individuen zusammengeballt.

Die Colonien auf Gelatine sind grauweiss, feingekörnt, die jüngeren auch bei schwächeren Vergrösserungen Coccencolonien sehr ähnlich. Auf schräger Würzegelatine bildet die Hefe ein breites, grauweisses, bisweilen schwach quergefurchtes Band, das oft eine mediale Erhabenheit zeigt. In Gelatinestich bilden sich nie Aestchen. Erst nach längerer Zeit tritt unbedeutende Verflüssigung ein. In Bierwürze grosser Bodensatz, kein Häutchen. Die Hefe verträgt Salzzusatz zu der Würze bis 20%. Doch verzögert sich die Entwickelung der Hefe in demselben Maasse, wie der Salzgehalt vermehrt wird. Bei 20% ist noch nach drei Wochen der Bodensatz nicht sehr gross. Wachsthum ist bei + 25° C. und bei Zimmertemperatur fast gleich gut. Culturen auf verschiedenen Nährböden entwickeln alle einen süsslichen Geruch.

Auf Eierscheiben wächst die Hefe ziemlich gut und bildet einen rein weissen, erhabenen, feuchten Belag. Die Consistenz oder Farbe der Scheibe wird nicht geändert, und die Cultur ist nicht eingesenkt. In rohen Eiern gezüchtet, vermehrt sie sich im Allgemeinen ziemlich langsam, und nach drei Wochen sind noch keine besonders hervortretenden Veränderungen des Eierinhaltes hervorgerufen. Auf Glycerinagar und Kartoffel grauweisser Belag. Milch wird dem Aussehen nach nicht verändert, aber die Reaction wird leicht alkalisch. Die Hefe

Digitized by Google

vergährt keine Zuckerart, weder bei Zimmertemperatur noch bei 25° C. und reducirt nicht Kalisalpeter. Alle Versuche von Sporbildungen auf Thonblöcken und auf Agar nach Beijerinck's Methode[1]) bei Zimmertemperatur und bei 25° C. sind misslungen.

Da diese Hefe sich also völlig unfähig zeigte, Zucker zu vergähren, lag es nahe, zu denken, dass sie vielleicht anstatt dessen proteolytische Eigenschaften besässe; sind doch schon einige Angaben über das Vorkommen solcher Fermente unter den Hefen zu finden.[2]) Als es sich erwiesen hatte, dass Zusatz von 2 bis 4% Borsäure zu Fleisch jede Entwickelung von Spaltpilzen völlig hemmte, das Weiterkommen des Hefepilzes aber nicht bedeutend verhinderte, so gab es eine Möglichkeit, den von diesem Organismus hervorgerufenen Zersetzungsproducten des Fleisches nachzuforschen. Von Rindfleisch wurden mit 4 proc. Borsäure mehrere Proben hergestellt. Nach 30 Tagen wurde Prüfung auf Pepton gemacht, aber mit negativem Resultat. Auch nach längerer Zeit ausgeführte Prüfungen ergaben denselben Ausfall. Andere Proben wurden benützt, um Leucin und Tyrosin nachzuweisen. Das Fleisch wurde mit der mehrfachen Menge Wassers gemischt, gekocht und filtrirt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedampft und einige Tage an einen kühlen Ort gestellt. Nach dieser Zeit waren immer reichlich weisse, kreideähnliche Körnchen zu finden, theils auf dem Boden des Gefässes, theils im Häutchen, das sich auf der Oberfläche bildete.

Wurden diese Körnchen gewaschen und umcrystallisirt, so zeigten sie das charakteristische Ansehen des Tyrosins. Sie ertrugen mässiges Erwärmen, lösten sich leicht in Salzsäure und Ammoniak. Nach Abdampfen des Ammoniaks waren die Crystalle beim Erkalten leicht wieder zu bekommen. Nachdem sie später weiter gereinigt waren, wobei Herr Professor C. Th. Mörner mir freundlichst geholfen hat, wurden auch Piria's Probe und

1) Beijerinck, M. W., Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen etc. Centralbl. f. Bact., II. Abth, Bd. IV, S. 662.

2) Siehe H. Will, Studien über die Proteolyse durch Hefen. Centralbl. f. Bact., II. Abth., Bd. IV, S. 753.

Digitized by Google

die Probe mit Millon'schem Reagens mit positivem Ausfalle gemacht.

Crystalle von Leucin wurden nie gefunden, obwohl das Filtrat mehrmals sehr stark eingedampft worden war. Dieses Spaltungsproduct kommt wahrscheinlich nicht oder wenigstens nicht reichlich vor.

Nach Beijerinck's[1]) Untersuchungen über Octosporushefe hängt die Absonderung des proteolytischen Enzyms dieses Pilzes, das dem Trypsin nahestehen soll, mit dem Absterben der Hefe zusammen. Ob es sich auch hier so verhält, ist nicht leicht zu entscheiden, aber es ist nicht sehr wahrscheinlich, weil eine grössere Menge Hefen kaum abgestorben sein kann, da der Höhepunkt des Wachsthums der Hefe noch lange nicht nach 30 Tagen eingetreten ist. Auch Will[2]) tritt zufolge seiner Untersuchungen über die Proteolyse durch Hefen der Ansicht Beijerincks nicht bei, sondern ist der Meinung, dass dieser Vorgang eine Function nicht absterbender und sich auflösender, sondern normaler Zellen sei, hervorgerufen durch Mangel an gelöster, speciell stickstoffhaltiger Nahrung und auch an Sauerstoff. Dies stimmt auch besser mit den neuesten Ermittelungen von E. Buchner.

Auf Grund der unbedeutenden Grösse, der Unfähigkeit Sporen zu bilden und Zucker zu vergähren, ist die Hefe wahrscheinlich zu der hauptsächlich durch negative Merkmale gekennzeichneten Gattung Torula zu rechnen. Sie ist sicherlich mit der von Wehmer aus Häringslake isolirten »Salzhefe« identisch und stimmt völlig mit einem Stamm überein, den ich aus Häringslake gezüchtet habe. Wahrscheinlich ist Fleisch für sie ein sehr guter Nährboden und sicherlich viel besser als Fisch. In Fisch mit Borsäure wächst sie gar nicht; ihr Wachsthum in Fleisch mit 4 proc. Borsäure ist dagegen sehr ausgiebig. In den 15 proc. Kochsalzproben trat die Hefe auch viel früher im Fleische als im Fisch auf.

1) Beijerinck, M. W., Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe. Centralbl. f. Bact., II. Abth., Bd. III, S. 521.

2) a. a. O.

Es scheint mir sehr wahrscheinlich, dass die Hefe dazu beiträgt, den charakteristischen Geruch alten Pökelfleisches und alter Pökellake hervorzurufen. Dieser erinnert theils an den süsslichen Geruch der Culturen und jüngeren Fleischproben, theils an den von älteren Fleischproben entweichenden Geruch nach fauler Presshefe.

Das Erste, was unbedingt in die Augen springen muss, ist, dass auch bei hohen Salzconcentrationen eine nicht unbedeutende Vegetation von Mikroorganismen vorkommt. Wenn man bedenkt, dass schon bei ziemlich niedrigem Salzzusatz Plasmolyse eintritt und die Bewegung cilientragender Organismen aufhört, konnte man a priori annehmen, dass oberhalb der Salzconcentration, welche diese Veränderungen hervorruft, eine lebhaftere Entwickelung von Organismen im Allgemeinen nicht vorkommt, wenn auch, wie mehrere Untersuchungen gezeigt haben, die Lebensfähigkeit der Keime noch nicht vernichtet wird. Im Gegentheil findet aber eine reichliche Mikrobienvegetation und ein reger Umsatz des Nährsubstrates weit über diese Grenze hinaus statt. Ja, beinahe so lange wie die hier berücksichtigten Medien überhaupt noch Kochsalz zu lösen im Stande sind, ist das Fortkommen von Organismen nicht völlig ausgeschlossen, wenn auch die Vegetation nahe dem Sättigungspunkte sehr bescheiden wird. Das Kochsalz ist in Folge dessen ein sehr schwaches bacterienhemmendes Mittel und steht in dieser Hinsicht vermuthlich mehreren anderen verhältnismässig ungiftigen Salzen nach. Wladimiroff[1]) hat nämlich bei Untersuchung mehrerer Salze der Gruppen Sulfate, Nitrate, Bromide und Chloride gefunden, dass im Allgemeinen die letzteren in den stärksten Concentrationen ohne Schädigung der Eigenbewegung vertragen wurden.

In dieser Resistenz gegen den schädlichen Einfluss des Kochsalzes tritt jedoch ein sehr bedeutender Unterschied zwischen Coccen und Stäbchen hervor. Denn während die letzteren in Proben mit einem Kochsalzgehalt über 12% in der Regel nicht fortkommen, ist die Entwickelung der ersteren bei beinahe der

1) Wladimiroff, A., Biologische Studien an Bacterien. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. X, 1891, S. 101.

doppelt grösseren Concentration von 23% wenigstens im Fleisch noch nicht völlig ausgeschlossen. Um zu untersuchen, ob diese Resistenz gegen Kochsalz nur einigen, vielleicht in eingesalzenen Waaren regelmässig vorkommenden Stäbchen und Coccen zukomme, habe ich verschiedene Organismen, darunter mehrere Fäulniserreger, in Bouillon mit 5, 10 und 15% Kochsalz überimpft. Das Resultat geht aus der folgenden Tabelle hervor und stimmt mit früheren Angaben von de Freytag[1]) und Stadler[2]) in Betreff derjenigen Bacterien, die sie untersucht hatten, gut überein.

Organismen	5% Kochsalz	10% Kochsalz	15% Kochsalz
Bacterium coli commune.	1 Tag. Gutes Wachsthum, Trübung und Bodensatz.	2 Tage. Kein Wachsth. 8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium typhi.	1 Tag. Mässig. Wachsthum, geringe Trübung, Bodensatz.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium punctatum.	1 Tag. Ziemlich gutes Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium vulgare (Proteus).	1 Tag. Gutes Wachsthum, starke Trübg.	2 Tage. Unbedeutender Bodens., der nicht weiter vermehrt wird.	
Bacterium fluoresc. liquefac.	2 Tage. Mässiges Wachstum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium fluoresc. non liqu.	2 Tage. Mäss. Wachsthum, Bouillon leicht getrübt.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium pyocyan.	1 Tag. Kein Wachsth. 2 Tage. Mäss. Wachsthum, Häutchen, Bodensatz, fast keine Farbenproduction. 6 Tage. Reichliches Wachsthum, starke Fluorescenz.	8 Tage. Kein Wachsthum.	

1) Freytag, de, C. J., a. a. O.
2) Stadler, E., a. a. O.

Organismen	5% Kochsalz	10% Kochsalz	15% Kochsalz
Bacterium Zopfii.	2 Tage. Mässiges Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacillus Anthracis.	1 Tag. Kein Wachsth. 2 Tage. Schwaches Wachsthum, geringer schleimig. Bodensatz, der kaum weiter zunimmt. Die Stäbchen plump, geschwollen, segmentirt u. färben sich schlecht.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
B. mesenteric. ruber.	1 Tag. Gutes Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacillus mesentericus vulgat. (Laborat.-Stamm; cfr. Nr. VIII S. 25)	1 Tag. Gutes Wachsthum. Trübung.	2 Tage. Nicht unbedeutend. Wachsth. Bodensatz. Keine Trübung 6 Tage. Zieml. reichlicher, stark zäher Bodens. Bouillon klar.	
Bacillus subtilis.	1 Tag. Gutes Wachsthum. 6 Tg. Starkes, dickes Häutchen u. mässiger Bodensatz.	1 Tag. Sparsames Wachsthum. 2 Tage. Gutes Wachsthum mit Trübung u. Bodensatz. 6 Tage. Dünnes Häutchen, Bodensatz reichlicher. 14 Tage. Starkes Häutchen.	1 Tag. Kein Wachsth. 6 Tage. Gutes Wachsthum, dicker, zäher Bodensatz. Die Stäbch. sind oft lang, ziemlich schmal u. unbewegl., aber auch kurz und beweglich. 14 Tage. Noch kein Häutchen.
Bacillus Megatherium.	1 Tag. Gutes Wachsthum, Bodensatz Keine Trübung.	2 Tage. Kein Wachsthum. 8 Tage. Kein Wachsth.	
Bacillus tetani.	2 Tage. Kein Wachsth 4 Tage. Schwaches Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacillus Anthracis sympt.	2 Tage. Schwaches Wachsthum. 4 Tg. Stark. Wachsth. mit reichl. Gasbildg. u. charakter. Geruch.	8 Tage. Kein Wachsthum.	

Organismen	5% Kochsalz	10% Kochsalz	15% Kochsalz
Vibrio cholerae.	2 Tage. Ziemlich gutes Wachsth., zusammengeklebte Haufen auf der Oberfläche. 4 Tg Dick. Häutchen.	4 Tage. Kleine Klümpchen auf der Oberfläche, die sich weiter nicht vermehren.	
Staphylococcus pyogenes aureus.	1 Tag. Starkes Wachsthum, Trübung und zäher Bodensatz.	1 Tag. Beinahe so gutes Wachsthum wie in 5 proc. Bouillon.	1 Tag. Schwaches Wachsthum, Trübung und unbedeutender, zäher Bodensatz. 6 Tage. Gutes Wachsthum, Trübg. u. reichlicher, zäher, fadenziehender Bodensatz.
Staphylococcus pyog. albus.	1 Tag. Starkes Wachsthum. Starke Trübung und Bodensatz.	1 Tag. Die Cultur fast gleich gut entwickelt wie m. 5proc. Kochsalz	4 Tage. Mäss. Wachsthum, Trübung und geringer Bodensatz.
Streptococc. pyogenes.	8 Tage. Kein Wachsthum.		
Mikrococcus bicolor.	1 Tag. Starkes Wachsthum.	2 Tage. Starkes Wachsthum mit Trübung u. Bodensatz.	2 Tage. Gutes Wachsthum, Trübung und Bodensatz.
Mikrococcus tetragenus.	1 Tag. Starkes Wachsthum. Bodensatz.	2 Tage. Ziemlich gutes Wachsth., Bodensatz und Wandbelag. 6 Tg. Reichl. Bodens.	4 Tage. Mäss. Wachsthum, schwache Trübung, Bodensatz.
Saccharomyces X.	5 Tage. Mässiges Wachsthum. Zucker wird langsam vergohren.	5 Tage. Sehr geringes Wachsthum.	20 Tage. Wahrscheinlich hat ein sehr geringes Wachsthum stattgefunden.

Hiezu ist zunächst zu bemerken, dass aus Culturen in Bouillon mit 5, 10 oder 15% Kochsalz unter Benützung von Fixirungsmitteln (z. B. Jodalkohol) verfertigte Präparate keine Plasmolyse der Zellen zeigen. Also muss diese Veränderung, die nach Fischer[1]) schon bei einem Kochsalzgehalt von 2,5% eintritt, gerade entgegen den Angaben dieses Forschers in den

1) Fischer, A., Vorlesungen über Bacterien. Jena 1897, S. 8.

Google

Salzlösungen zurückgegangen sein, wenn man nicht annehmen will, dass die plasmolysirten Zellen in diesem Zustande vermehrungsfähig sind und bei der Vermehrung nicht plasmolysirte Individuen erzeugen. Ein Zurückgang der Plasmolyse ist von Wladimiroff[1]) auch constatirt worden, als er beobachtete, dass nach einiger Zeit eine Restitution der durch die Plasmolyse gestörten Beweglichkeit stattfand. Uebrigens kann die Plasmolyse keine die Vitalität der Zellen sehr schädigende Veränderung sein, denn die untersuchten Organismen kommen doch alle in Bouillon mit 5% Kochsalz fort, obwohl sie Plasmolyse überstanden haben müssen. Jedenfalls ist es wahrscheinlich, dass ein Theil der in Kochsalzbouillon übertragenen Individuen zu Grunde geht. Stadler[2]) hat nämlich bewiesen, dass die Zahl der in 7proc. Kochsalzbouillon eingeführten Bacterien in der nächsten Zeit nach der Ueberimpfung einer nicht unbedeutenden Verminderung unterliegt. Dies steht übrigens in Einklang mit Ergebnissen von Metschnikoff, Baumgarten (Jetter und Walz), Buchner, Bail u. A., welche bei Gelegenheit von Versuchen über Bactericidie durch Serum und Salzlösungen gewonnen wurden.

Ein Salzzusatz von 10% genügt aber, um weiteres Wachsthum aller dieser Stäbchen — Bacillus subtilis und vulgatus ausgenommen — zu verhindern. In Folge dessen erscheint es auch sehr wahrscheinlich, dass auch bei der Conservirung immer nur einige bestimmte Arten bei der Salzconcentration von 10% und darüber vegetiren können. Bemerkenswerth ist auch, dass diese beiden Bacillenarten nicht Indolbildner sind, was vom Conservirungsstandpunkte von Bedeutung sein kann. Auch der Unterschied zwischen Coccen und Stäbchen hat sich in Bezug auf die Empfindlichkeit gegen Kochsalz durch diese Versuche bestätigt. Nur Streptococcus pyogenes hat sich gegen Kochsalz sehr empfindlich erwiesen, sein Wachsthum aber ist auch in gewöhnlichen Nährböden ziemlich beschränkt.

1) Wladimiroff, A., a. a. O., S. 107.

2) Stadler, E., a. a. O., S. 59.

Digitized by Google

Das Auftreten der untersuchten Stoffwechselproducte ist in der folgenden Tabelle anschaulich gemacht.

I. Fisch.

Kochsalz	Coccen (Hefen)	Stäbchen	Alkalische Reaction	Ammoniak	Schwefelwasserstoff	Pepton	Buttersäure	Indol	Phenol
Procent	Tage								
5	2	2	4	7	6	10	12	16	55
8	2	14	6	6	14	11	23	29	75 (Spur)
10	2	26	10	10	28	30	23	68	—
12	2	52	12	12	58	58	52	75	—
15	14	—	55	—	—	75 (Spur)	75	—	—
18	15	—	60	—	—	—	75	—	—
20	50	—	—	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—	—	—	—

II. Rindfleisch.

Kochsalz	Coccen (Hefen)	Stäbchen	Alkalische Reaction	Ammoniak	Schwefelwasserstoff	Pepton	Buttersäure	Indol	Phenol
Procent	Tage								
5	2	2	7	7	6	15	10	26	—
8	2	9	9	9	12	20	17	75	—
10	2	36	9	12	40	30	20	75 (Spur)	—
12	4	—	15	20	—	26	26	—	—
15	7	—	20	75	—	35	45	—	—
18	10	—	—	—	—	75 (Spur)	75	—	—
20	32	—	—	—	—	—	—	—	—
23	29	—	—	—	—	—	—	—	—

Schwefelwasserstoff, Indol und Phenol, welche die eigentliche Fäulnis charakterisiren, sind immer auf die Wirksamkeit der Stäbchen zurückzuführen. Zuerst tritt Schwefelwasserstoff auf und zwar stets dann, wenn die Stäbchenvegetation begonnen hat. Wahrscheinlich ist dies dadurch zu erklären, dass ein Theil des Schwefels in dem Eiweisse sehr wenig fest gebunden und also leicht abspaltbar ist. Wenn man das Vorkommen, auch kleinerer Mengen Schwefelwasserstoff in einem Nahrungsmittel

Digitized by Google

für unzulässig halten würde, was vielleicht nicht allgemein zugegeben wird, so bedürfte man, unter der Voraussetzung, dass Salpeter nicht zugesetzt ist, eigentlich nur des Nachweises von Stäbchen, um die Unbrauchbarkeit desselben zu constatiren. Phenol kommt in der Regel nur in Fischproben von den zwei niedrigsten Concentrationsgraden vor und auch da erst nach langer Beobachtungszeit. Einmal wurde bei einem Destillate von einer Fischprobe mit 10% Kochsalz ein mässiger Niederschlag von Tribromphenol erhalten, aber das scheint Ausnahme zu sein. Die Anwesenheit von Phenol muss also als Zeichen einer sehr weit gegangenen Zersetzung angesehen werden. Auch Indol trat, ausser bei der Fischprobe mit dem niedrigsten Salzgehalte, relativ spät auf, und oft waren die Proben lange vorher übelriechend (z. B. Probe Nr. 1), ehe Indol nachgewiesen werden konnte. Der Nachweis des Indols eignet sich also nicht, um das Eintreten der beginnenden Fäulnis objectiv festzustellen.

Die anderen Zersetzungsproducte, Ammoniak, Buttersäure und Pepton, kamen auch oberhalb der Grenze, bei welcher die Fäulnis aufhörte, vor, und bis zu einer Salzconcentration von 15% in bisweilen nicht allzu kleinen Mengen. Oberhalb dieses Procentgehaltes waren sie dagegen nicht constant, konnten aber doch ab und zu nachgewiesen werden. Die Anwesenheit dieser Substanzen ist gewiss von keiner grossen Bedeutung in dem Sinne, als ob sie eine Minderwerthigkeit des Nahrungsmittels bedingen würden, obwohl die beiden ersten für den menschlichen Organismus werthlos sind. Das Interesse an ihrem Vorkommen liegt fast mehr darin, dass sie anzeigen, dass noch bei diesem Salzgehalt nicht unbedeutende Veränderungen des Substrates stattfinden. Die Producte dieser Veränderungen kennen wir nur unvollständig, und vielleicht sind dieselben nicht alle so unschädlich wie die erwähnten. Weiter scheint es auch nicht ausgeschlossen zu sein, dass Producte entstehen können, welche den Geschmack, Geruch und andere Eigenschaften des Nahrungsmittels verändern.

Zwischen den Fisch- und Fleischproben konnten einige Verschiedenheiten festgestellt werden. Um die eigentliche Fäulnis

zu verhindern, war beim Fisch stets ein grösserer Salzzusatz (12%) nöthig als beim Fleisch, und in diesem ging bei der Beobachtungsdauer von $2\frac{1}{2}$ Monaten die Zersetzung niemals so weit, dass Phenol nachzuweisen war, welches in den beiden Fischproben mit dem niedrigsten Kochsalzgehalte constant auftrat. Auch Indol wurde im Fische entschieden schneller als in den entsprechenden Concentrationen von Fleisch gebildet. Dagegen war, so weit man nach Deckglastrockenpräparaten beurtheilen konnte, die Vegetation von Coccen und Hefe bei den höchsten Concentrationen in den Fleischproben oft reichlicher als in denen mit Fisch und trat auch regelmässig früher auf.

Von den aus den Proben gezüchteten Organismen sind nur die, welche zahlreich und constant vorkommen, beschrieben. Die Isolirung der Coccen und der Hefe hat keine Schwierigkeiten geboten, die Züchtung der Stäbchen aber war aus allen Proben, die mehr als 5% Kochsalz enthielten, mit grosser Mühe verbunden und ist theilweise nicht befriedigend gelungen. Aus Fleischproben mit 10% Kochsalz ist kein Stäbchen gezüchtet worden, obwohl eine grosse Menge Versuche diesbezüglich angestellt wurden.

Aus allen Proben ohne Ausnahme sind nur aërobe oder facultativ anaërobe Organismen isolirt, und auf den mehrfach bei Sauerstoffausschluss angelegten Platten gingen nur solche Keime auf, die auch in den aëroben zu finden waren. Es muss auch bemerkt werden, dass in den anaëroben Platten die Zahl der Colonien ungemein viel geringer war als in den aëroben. Von den isolirten Organismen wächst bei Ausschluss von Sauerstoff nur einer, Nr. 5, besser und einer, Nr. 6, gleich gut wie bei Zutritt des Sauerstoffs. Das Vorkommen obligat anaërober Organismen in diesen Versuchsproben scheint also auszuschliessen zu sein. Mehrere der strengen Anaërobien vermehren sich in Reincultur in Nährböden mit 5% Kochsalz. Ihre Abwesenheit in den Kochsalzproben hängt sicher davon ab, dass sie unter diesen Bedingungen im Kampfe mit den aëroben unterliegen. Andere sind dagegen, betreffend Kochsalz, schon an und für sich sehr empfindlich, z. B. Bacillus botulinus, dessen Wachsthum in

Google

Traubenzuckerbouillon mit 2% Kochsalz völlig aufgehoben ist.[1]) In Proben mit niedrigerem Salzgehalt als 5% habe ich dagegen mehrmals obligate Anaërobien gefunden, bisweilen fast nur diese Stäbchen und in grosser Zahl.

Da die Coccen im Allgemeinen gegen Kochsalz sehr wenig empfindlich sind, erscheint es sonderbar, dass in den Proben mit höherem Salzgehalt gewöhnlich nur zwei Arten zu finden waren. Entweder besitzen diese beiden eine noch grössere Resistenz gegen Kochsalz, oder sie sind in der äusseren Natur so ungemein reichlich vorhanden, dass sie den weitaus grössten Theil der Verunreinigung des Rohmaterials mit Organismen bilden. Um diese Frage zu entscheiden, wurden folgende Versuche angestellt. Aus dem Innern eines grösseren Fleischstücks wurde, nachdem die Oberfläche mit einem geglühten und noch heissen Messer sterilisirt war, mit sterilen Instrumenten Fleisch ausgeschnitten und zerkleinert. Aus dem Fleisch wurden in gekochten Glasgefässen mit sterilisirtem Kochsalz zwei 15 proc. Proben hergestellt. Zu der einen wurden 5 ccm Cultur von Staphylococcus pyogenes aureus in 15 proc. Kochsalzbouillon zugesetzt. Die zweite Probe wurde auf dieselbe Weise mit Bacillus subtilis inficirt.

17. Versuch.

Fleisch mit 15% Kochsalz versetzt, mit Staphylococcus pyogenes aureus inficirt. 20 Tage. Die Farbe rothbraun, Geruch süsslich, aber auch an Käse erinnernd. Die Oberfläche weich, von einer Schicht von Hefen bedeckt. In Deckglaspräparaten reichlich Coccen, weniger zahlreich Hefen. 36 Tage. Auf Agar sind Nr. 3 und einige Colonien von M. bicolor aufgegangen.

18. Versuch.

Fleisch mit 15% Kochsalz versetzt mit Bacillus subtilis. 20 Tage. Fest, rothbraun, der Geruch kaum geändert, auf der Oberfläche Schimmel. Deckglaspräparate zeigen wenige lange, schlanke Stäbchen, die nicht oder sehr schlecht gefärbt werden. Auch einige Coccen. 36 Tage. Auf Platte sind Colonien von Nr. 3 zahlreich und Nr. 4 weniger zahlreich aufgegangen, aber keine Stäbchen. 45 Tage. Geruch dumpfig, auf der Oberfläche Häutchen von Schimmel und Coccen. In Deckglaspräparaten reichlich Coccen, wenige Hefen, einzelne fast ungefärbte Stäbchen.

Obwohl in beiden Fällen die Proben möglichst aseptisch hergestellt waren, und eine grosse Einsaat von Organismen

1) Ermengem, a. a. O., S. 44.

Digitized by Google

gemacht war, so waren doch nach 35 Tagen dieselben Organismen wie in anderen Proben mit gleich grossem Salzgehalt zu finden. Daraus kann man schliessen, dass diese Organismen, welche von Anfang an nur in geringer Zahl vorhanden gewesen sein konnten, ein grosses Anpassungsvermögen an Kochsalz besitzen,

Die in den Versuchsproben beobachteten Zersetzungen lassen sich nicht alle ohne weiteres durch die Eigenschaften der gezüchteten Organismen erklären. Die aus den mehr als 5% Kochsalz enthaltenden Proben gezüchteten Stäbchen bilden in Peptonbouillon kein Indol, und die Schwefelwasserstoffentwickelung aus den Fischproben mit 10 und 12% Kochsalz war weit intensiver, als dass man sie allein auf die Wirksamkeit der langsam Schwefelwasserstoff bildenden Stäbchen Nr. IX und X zurückführen könnte. Es ist zu bedenken, dass man nicht berechtigt ist, die Befunde, welche in Nährmedien mit Pepton als Eiweissstoff erhalten werden, direct mit denen bei anderen Eiweissstoffen und insbesondere bei nativem Eiweisse zu vergleichen. Schon die verschiedenen Peptone unterscheiden sich nach Petri und Maassen[1]) betreffs der Schwefelwasserstoffbildung nicht unbedeutend von einander. Schon vorher hatte Holschewnikoff[2]) beobachtet, dass verschiedene Eiweissarten Schwefel als Schwefelwasserstoff in ungleicher Menge abgeben. Es scheint deshalb auch wahrscheinlich, dass die Schwefelwasserstoffentwickelung dieser Stäbchen unter übrigens ähnlichen Bedingungen grösser sein kann in Fisch- und Fleischproben als in den Culturen mit Witte'schem Pepton. Betreffend die Indolbildung ist dagegen meines Wissens nichts bekannt, was die Annahme stützen könnte, dass Indolbildung aus nativem Eiweisse leichter vor sich gehe als aus Pepton. Man könnte also die Indolbildung auch einem nicht gezüchteten Organismus zuschreiben.

Die Befunde in den Deckglaspräparaten aus den Proben Nr. 4 und 9 konnte man so deuten, dass auch höhere Organismen

1) Petri, R. J., und Maassen, A., Beiträge zur Biologie der krankheitserregenden Bacterien etc. Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte, Bd. VIII, S. 347.

2) Holschewnikoff, Ueber die Bildung von Schwefelwasserstoff durch Bacterien. Fortschritte d. Medicin, 1889, S. 201.

Google

in ihnen vorkommen. In der That habe ich aus zwei Fleischproben mit 18 und 23% Kochsalz eine Actinomycesart (Act. albus Gasp.?) gezüchtet, welche Schwefelwasserstoff und wahrscheinlich kleine Mengen Indol bildet. Auf den mehrmals angelegten Platten war dieser Pilz immer zahlreich aufgegangen, während nur wenige Colonien von anderen Organismen zu finden waren. Der Pilz hat sich in den Proben offenbar vermehrt. Der von Lachner-Sandoval[1]) eingehend studierte Act. albido-flavus Gasp. wächst in 6proc. Kochsalzbouillon ganz üppig, und bei 16% findet noch eine schwache Entwickelung statt. Es wäre also denkbar, dass die verzweigten Fäden der Proben Nr. 4 und 9 wirklich höhere Organismen vertreten, welche auf unseren gewöhnlichen Nährböden sich nicht züchten lassen. Doch muss bemerkt werden, dass einzelne Momente auf eine andere Deutung hinweisen. Bei dem ersten Auftreten der Stäbchen in der Probe waren solche verzweigte Formen nicht zu sehen, sie vermehrten sich aber, so dass sie zuletzt die überwiegende Mehrzahl bildeten. Sobald sie aber recht zahlreich geworden waren, gelang es nicht weiter auf den angelegten Platten die Stäbchen zu bekommen, welche früher immer, wenn auch nicht zahlreich, aufgegangen waren. Dieser Umstand würde sich erklären lassen, wenn man annähme, dass diese Verzweigungen Involutionsformen sind, gleichwie sie z. B. bei Bacillus radicicola vorkommen.

Ueber das Vorkommen der verschiedenen Organismen geben die folgenden Tabellen Uebersicht.

Fisch.

Tage	5%	8%	10%	12%	15%	18%	20%
6—12	1, 2, 3 7	1, 2	1, 2	2, 3	3, 4 13		
30	2, 5 7	1, 2, 3	2, 3 9	3, 4	3, 4 13	3, 4 13	
50	2, 5 7, 8	2, 3, 5, 6 8	3, 4 10	3 11	3, 4 13		
75		2, 3, 5, 6 10	3, 4, 6 10	3, 4, 5 10, 11	3, 4 13	3, 4	3, 4

1) Lachner-Sandoval, V., Ueber Strahlenpilze. Strassburg 1898, S. 54.

Fleisch.

Tage	5 %	8 %	10 %	12 %	15 %	18 %	20 %
6—12	3, 4 7, 12	1, 2	1, 2	1, 3	4 13		
30	6 7, 9	1, 2, 6	1, 2				
50	6 9	1, 2, 6	1, 2, 3, 6	1, 3	3, 4, 6	3, 4	4
75	6 9	1, 6 9	1, 3, 6	3, 6	3, 6		

Das nähere Studieren der Organismen hat als Resultat ergeben, dass die, welche die tiefstgehenden Zersetzungen hervorrufen, am meisten empfindlich gegen Kochsalz sind. Nicht nur dass, wie früher erwähnt wurde, die Stäbchen weit empfindlicher sind als die Coccen, sondern auch in diesen zwei Gruppen ist dasselbe Verhältnis zu beobachten. Bei dem niedrigsten Concentrationsgrade wachsen die energisch verflüssigenden Nr. 7 und 8, und auch Nr. 12 besitzt diese Eigenschaft, doch in geringerem Grade. Dagegen verflüssigt Nr. 9 sehr langsam, und Nr. 10 und 11 verflüssigen nicht oder fast nicht. Auch die Fähigkeit der Schwefelwasserstoffbildung nimmt auf dieselbe Weise ab. In artificiellen Nährböden mit Pepton bildet nur Nr. 7 Indol. Auch mehrere Coccen, z. B. Staphylococcus aureus, Streptococcus conglom. u. a. sind im Stande, aus Eiweiss Schwefelwasserstoff zu bilden, aber alle aus den Versuchsproben gezüchteten Coccen entbehren diese Eigenschaft. In den Proben mit höherem Salzgehalt wachsen überwiegend die beiden Coccen Nr. 3 und 4, welche keine oder sehr unbedeutende eiweisslösende Eigenschaften besitzen. Pepton war auch nicht oder erst nach längerer Zeit nachzuweisen. Zu ihren Zersetzungsproducten gehört auch die Buttersäure, und wahrscheinlich trägt sie bei, den Käsegeruch der Proben hervorzurufen. Auch gegen andere Schädlichkeiten scheinen die Fäulniserreger sehr empfindlich zu sein. Um sterilen Nährboden vom Fisch zu erhalten, ohne dass dieser völlig gekocht wurde, versuchte ich ihn durch discontinuirliches Erwärmen längere Zeit bei + 55 bis 60° C. zu

Google

sterilisiren. Es gelang nie, sterilen Fisch zu bekommen, aber in den erwärmten Proben entstand kein übler Geruch, obwohl sie immer reichlich Stäbchen enthielten.

Unter den Zersetzungsproducten erwartete ich auch Trimethylamin zu finden. Deshalb wurden die Coccen und die Hefe in grösseren Mengen auf verschiedenen Nährböden, wie Fischbouillon, sterilisirtem Fisch und Kartoffelbrei, mit und ohne Zusatz von Kochsalz längere Zeit gezüchtet. Geruch nach Trimethylamin war aber nie zu bemerken. Nun sind freilich diese Nährböden von dem frischen Fische sehr abweichend, aber auch in den ursprünglichen Versuchsproben mit rohem Fisch trat dieser Geruch nicht auf. Allerdings scheint der Trimethylamingeruch nur den aus Salzwasserfischen hergestellten Conserven eigen zu sein. Es liegt am nächsten anzunehmen, dass gerade im Meerwasser irgend ein Organismus vorkommt, der die Eigenschaft der Trimethylaminbildung besitzt.

Ausser der allgemeinen entwickelungsverlangsamenden Wirkung und bei höheren Concentrationen der vollständigen Hemmung des Wachsthums der stärker eiweisszersetzenden Organismen gibt es noch eine Weise, auf welche eine fäulnishemmende Wirkung durch Kochsalz möglich wäre, nämlich, wenn es auf die Organismen so einwirkte, dass die Menge ihrer Zersetzungsproducte wesentlich herabgesetzt werden würde. Ich habe mehrere Versuche angestellt, um zu sehen, ob eine solche Herabsetzung stattfinde.

Auf gewöhnliche Weise dargestellte Gelatine wurde in zwei Theile getheilt, und dem einen noch 5% Kochsalz zugesetzt. Diese Gelatine enthielt also 5,5% und die andere 0,5% Salz. Mit je 5 ccm dieser Gelatinen wurden gleich weite Eprouvetten beschickt, wodurch gleich hohe Gelatineschichten entstanden. In diesen sterilisirten Gelatinen wurden Stichculturen von mehreren verflüssigenden Mikroorganismen angelegt, und zwar von jedem mindestens drei Culturen, sowohl in gewöhnlicher als in Salzgelatine. Um die Schnelligkeit der Verflüssigung vergleichen zu können, war es nöthig, ungefähr gleich grosse Mengen Bacterien in die Gelatine zu übertragen. Deshalb wurde das Impf-

material nicht von Agar-, sondern aus Bouilloneulturen genommen, weil man für praktische Zwecke annehmen kann, dass einem in Bouillon eingetauchten Drahte immer ziemlich gleich grosse Mengen der Culturflüssigkeit anhaften. Die Gleichförmigkeit der Verflüssigung in allen Eprouvetten mit demselben Organismus und gleich grossem Salzgehalt bestätigte auch diese Annahme.

Die untersuchten Organismen haben sich sehr ungleich verhalten. Bacterium pyocyaneum und Vibrio cholera riefen in 3 Wochen keine Verflüssigung der 5,5proc. Gelatine hervor. Das Wachsthum aber war auch so beschränkt, dass dieses Verhältnis ohne Weiteres dadurch erklärt werden konnte. Die Coccen Nr. 1 und 2 verflüssigten beide Gelatinearten völlig gleich rasch, und bei Bacterium prodigiosum war durch Kochsalz nur eine höchst unbedeutende Verzögerung zu beobachten. Einleuchtend ist also, dass die lösende Kraft auf Gelatine dieser drei Organismen durch Kochsalz in Concentration bis zu 5% nicht eingeschränkt wird. In den Culturen aller übrigen Organismen war die Verzögerung der Verflüssigung in Kochsalzgelatine sehr bedeutend. Bacterium punctatum rief in Salzgelatine erst am 14. und Proteus am 22. Tage eine gleich grosse Verflüssigung hervor wie die, welche in gewöhnlicher Gelatine am 2. Tag entstanden war. Dasselbe Verhältnis bestand auch die nächste Zeit, so dass für Bacterium punctatum nach 28 Tagen die Verflüssigung der Salzgelatine kaum grösser war als in gewöhnlicher Gelatine nach 4 Tagen. Daraus kann man aber noch keine Schlussfolgerungen ziehen, ohne zu wissen, wie viel der betreffende Organismus in seinem Wachsthum durch Salz beeinflusst wird, d. h. innerhalb welcher Zeit die Zahl der Individuen in Salzgelatine ebenso gross ist wie die Zahl derselben in gewöhnlicher Gelatine nach 2 Tagen. Um zu Aufschlüssen darüber zu gelangen, versuchte ich diese Wachsthumsverlangsamung in Bouillon mit gleich grossem Salzgehalt bei derselben, nicht sehr hohen Zimmertemperatur zu bestimmen. Dabei hat es sich schon am Anfange herausgestellt, dass, wenn die Einsaat in Bouillon ebenso gross wie in Gelatine genommen wurde, es

nach einem und noch weniger nach 2 Tagen nicht weiter möglich war, die Individuen in eine auch ziemlich kleine Oese der Cultur in gewöhnlicher Bouillon ohne colossale Verdünnungen zu zählen. Durch Verminderung der Einsaat und Anwendung grösserer Bouillonmengen, 25 ccm gelang es mir schliesslich, die Individuen in einer kleinen Oese der 24 Stunden alten Culturen in gewöhnlicher Bouillon zu bestimmen. Hier sollen nur zwei Versuchsserien mit Bacterium punctatum (Nr. 7) angeführt werden.

	1 Tag	2 Tage	3 Tage	$3^1/_2$ Tage	4 Tage
Gewöhnliche Bouillon,	1 006	—	—	—	—
kleine Oese	206 000	—	—	—	—
Bouillon mit 5% Kochsalz,	—	10	106	300	1 048
kleine Oese	—	236	5 200	—	500 000

Die Entwickelung geht also ungefähr viermal langsamer in Salzbouillon. Daraus ist man aber noch nicht berechtigt, zu folgern, dass die Individuen in Salzbouillon nach 8 Tagen ebenso zahlreich sind wie in gewöhnlicher Bouillon nach 2 Tagen. Indessen hat Stadler[1]), wie früher erwähnt ist, beobachtet, dass die in 7proc. Salzbouillon eingeführten Bacterien die nächste Zeit eine nicht unbedeutende Verminderung ihrer Zahl erfahren. Da diese Verminderung auf den 1. Tag fällt, so ist anzunehmen, dass die Vergleichung nach 8, bezw. 2 Tagen, der Salzbouillon günstiger ausfallen wird; ich meine also, dass in dieser nach 8 Tagen die Zahl der Organismen grösser sein dürfte, als in gewöhnlicher Bouillon nach 2 Tagen. Der Ausdruck für die Verlangsamung der Vermehrung in Bouillon kann jedoch nicht direct auf Gelatine übertragen werden, ohne dass man wüsste, dass die Vermehrung in Salzgelatine verhältnismässig nicht langsamer als in Salzbouillon weiter schreitet. Stadler[2]) hat aber in Bezug auf Bacterium coli und morbificans bovis gefunden, dass in 7proc. Salzbouillon bei + 37° C. eine vollständige Hemmung des Wachsthums eintreten kann, wenn die

1) Stadler, E., a. a. O., S. 59 u. ff.
2) Derselbe, a. a. O., S. 65 u. ff.

Digitized by Google

Einsaat genügend klein genommen wird, während bei grosser Einsaat gutes Wachsthum stattfindet. Daraus geht mit Wahrscheinlichkeit hervor, dass die Wachsthumsverzögerung verhältnismässig grösser sein dürfte bei einer kleinen Einsaat als bei einer grossen. Dieses habe ich auch betreffend Bacterium punctatum in 5,5proc. Kochsalzbouillon bei Zimmertemperatur bestätigen können. Nun war es aber aus den angeführten Gründen nöthig, die Einsaat in Bouillon viel kleiner zu machen als in Gelatine, und deshalb ist es nicht wahrscheinlich, dass die Individuen in 5% Salzgelatine nach 8 Tagen weniger zahlreich sein würden als in gewöhnlicher Gelatine nach 2 Tagen. Die Verflüssigung der Salzgelatine erreichte erst am 14. Tage dieselbe Grösse wie in gewöhnlicher Gelatine am 2. Tage. Die Verlangsamung der Verflüssigung betrug also 6 Tage mehr als die Verlangsamung der Vermehrung der Individuen nach der gemachten Schätzung zu beurtheilen. Meiner Ansicht nach deuten die Versuche, betreffend Bacterium punctatum (Nr. 7), dahin, dass Anwesenheit von 5proc. Kochsalz die Verflüssigung in Gelatine vermindert.

Durch die Eigenschaft der Hefe, in ihrem Wachsthum durch Borsäure nicht gehemmt zu werden, während das Weiterkommen der Stäbchen und Coccen völlig unterdrückt wird, war eine Möglichkeit gegeben, die Einwirkung des Kochsalzes auf die Tyrosinbildung der Hefe in rohem Fleische zu studiren.

19. Versuch.

Aus 500 g Rindfleisch wurde wie früher eine Probe mit 15% Kochsalz und 2% Borsäure verfertigt und mit einer grossen Menge Reincultur der Hefe gemischt. Als Controle wurde aus 200 g Fleisch eine Probe mit 2% Borsäure und Hefecultur angelegt. In Deckglaspräparaten aus beiden waren während der ganzen Beobachtungszeit nur Hefen zu finden. Auf der Oberfläche der Controlprobe aber entstanden einige Schimmelcolonien, welche weggenommen wurden. Nach 2 Monaten hatte die Probe deutlichen Geruch nach Pökellake, grauweisse Farbe, und die Oberfläche war sehr weich. Tyrosin war nicht nachzuweisen. Dagegen enthielt die nicht halb so grosse Controle ziemlich reichlich Tyrosin. Das Kochsalz hat offenbar die Tyrosinbildung der Hefe unterdrückt, obwohl die Vegetation derselben eine äusserst ausgiebige war. Es muss hier auch der deutliche Geruch nach Pökelfleisch der Probe bemerkt werden. Dieser Versuch beweist auch, scheint es mir,

Digitized by Google

dass der Geruch des Pökelfleisches gerade auf die Zersetzung dieser Hefe zurückgeführt werden muss, weil in der Probe keine anderen Organismen zu finden waren.

Nach diesen Untersuchungen zu urtheilen, scheint es sich so zu verhalten, dass einige Organismen durch Kochsalz eine Einschränkung in der Umsetzung des Nährmaterials erfahren können, während andere, wenigstens durch kleinere Mengen, nicht beeinflusst werden.

Betreffend den Ursprung der Verunreinigung des Rohmaterials mit Organismen, ist es eigentlich nicht nöthig, viel zu erörtern, weil Staub, Gebrauchsgegenstände, Wasser u. a. eine genügende Quelle dafür sind. Nur die Herkunft der Hefe ist näher untersucht worden. Wehmer[1]) hat angenommen, dass die Hefe der Häringslake aus Meerwasser stammt. Diese Annahme, dass sie ein Wasserbewohner sei, war schon deshalb nicht sehr wahrscheinlich, weil sie auch im Fleische immer und zahlreich zu finden war. Alle Versuche, die Hefe aus dem Prager Wasserleitungswasser zu bekommen, scheiterten auch. Dagegen war es mit keiner Schwierigkeit verbunden, das Vorkommen der Hefe in Staub nachzuweisen.

Aus Würzegelatine mit 10proc. Kochsalz wurden auf gewöhnliche Weise Platten in Petri'schen Schalen angelegt. Nach dem Erstarren wurden sie auf dem Fussboden des Laboratoriums offen hingestellt, und mit einem Handtuch wurde Bodenstaub aufgewirbelt. Danach wurden sie zugedeckt und aufbewahrt. Nach 6 bis 7 Tagen waren kleine, graue, undurchsichtige Colonien aufgegangen, die, auch vergrössert, Coccencolonien äusserst ähnlich waren. Deckglaspräparate zeigten aber, dass es sich um Hefen handelte, und nach 2 bis 3 Wochen waren die Colonien denen der aus Fleisch und Fisch gezüchteten Hefe sehr ähnlich. Bei näherem Studium waren unterscheidende Merkmale zwischen den beiden Organismen nicht zu constatiren.

Dass die Hefe nicht aus Wasser stammt, sondern dass ihr Vorkommen auf Verunreinigung mit Staub und Schmutz zurück-

1) Wehmer, C., a. a. O.

Digitized by Google

zuführen ist, halte ich, wenigstens meine Proben betreffend, für bewiesen.

Ueber die Giftigkeit der Umsetzungsproducte, die von den in gesalzenen Waaren vegetirenden Organismen gebildet werden.

Wenn es nach dem Vorausgegangenen als festgestellt angesehen werden darf, dass in fast allen eingesalzenen Fisch- und Fleischwaaren eine mehr oder weniger bedeutende Vegetation von Organismen stattfindet, liegt die Frage nahe, ob die von ihnen erzeugten Producte unschädlich sind. Dass nach Genuss von derartigen Fischen acute Erkrankungen auftreten können, die dem Bilde des Botulismus völlig gleich sind, ist durch die Fälle von Cohn, Schreiber, Hirschfelt, Alexander und David bewiesen. Doch handelte es sich wahrscheinlich um wenig gesalzene Waaren, wie Bückling etc, und sie sind auch Ausnahmefälle. Für den Menschen kann man wohl annehmen, dass die stärker gesalzenen Fischconserven völlig unschädlich sind, wie die Erfahrung lehrt.

Um die Wirkung der Zersetzungsproducte auf Meerschweinchen zu prüfen, wurde folgender Versuch gemacht. Von einer 30 Tage alten Fischprobe mit 15proc. Kochsalz wurden 2 g mit 6 ccm sterilem destillirten Wasser zerrieben und centrifugirt. Von der Flüssigkeit, die reichlich Mikroben enthielt, wurden 3 ccm einem Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Ein zweites Meerschweinchen bekam ebenso viel auf dieselbe Weise von Fleisch hergestellte Flüssigkeit und ein drittes als Controle 3 ccm sterile 4proc. Kochsalzlösung. Alle Thiere waren nach der Injection munter und zeigten keine Krankheitserscheinungen während der Beobachtungszeit, die nach einem Monate beendigt wurde. Die Proben enthielten keine für Meerschweinchen pathogene Keime oder giftige Substanzen. Dadurch ist selbstverständlich nicht bewiesen, dass solche überhaupt nicht vorkommen. Diese Versuche wurden nicht fortgesetzt. Verschiedene Thierspecies reagiren gegen ein Bacteriengift, z. B. gegen das Botulismusgift, höchst verschieden. Es ist nicht ausgeschlossen,

dass andere Thiere weniger unempfindlich sind. Bei den Schweinen gibt es auch wirkliche Vergiftungsfälle mit Häringslake, die vielleicht beweisen können, dass von den in stark concentrirter Salzlösung vegetirenden Organismen giftige Substanzen abgesondert werden. Zwei von Ebner[1]) mitgetheilte Fälle seien kurz angeführt.

Der erste Fall betraf einen Bestand von 30 Schweinen verschiedenen Alters. Sie sollten mit dem Abendfutter 10 l Häringslake bekommen. Diese Menge wurde indessen mit dem Futter nicht gleichmässig gemischt, und die zuerst gefütterten Schweine erhielten wahrscheinlich den grössten Theil der Lake. Den nächsten Morgen Früh zeigten neun von den zuerst gefütterten Thieren ein auffallend verändertes Benehmen. Die sieben am schwersten erkrankten vermochten sich kaum aufzurichten, ihr Gang war schwerfällig, schwankend und taumelnd. Der ganze Körper zitterte heftig, während ununterbrochene Kaubewegungen ausgeführt wurden. Von Zeit zu Zeit wurde der ganze Körper von heftigen Muskelkrämpfen erschüttert. Noch im Laufe desselben Tages verendeten sieben Schweine unter zunehmender Athemnoth und Erscheinungen allgemeiner Lähmung.

Der zweite Fall betraf elf Schweine, die unbestimmte Mengen Häringslake bekommen hatten. Am 3. Tage erkrankten neun und innerhalb 2 Tagen starben sechs; die übrigen genasen. Die hauptsächlichsten Krankheitserscheinungen waren quälender Durst bei gänzlichem Futterlustmangel, hartnäckige Verstopfung, periodische Krampfanfälle mit starkem Geifern, starkes Muskelzittern und Kaukrämpfe mit Zähneknirschen. Bei einzelnen Schweinen setzten von Zeit zu Zeit heftige Wuthanfälle ein, während welcher die Thiere besinnungslos gegen die Wand anrannten und laut schreiend an derselben in die Höhe zu steigen suchten. Später folgte Lähmung des Hintertheils, röchelndes Athmen und Tod durch Herzlähmung.

Die Section der verendeten Schweine ergab übereinstimmend: hochgradige venöse Stauung in sämmtlichen Organen, besonders

1) Ebner, A., Zwei Fälle von Vergiftungen mit Häringslake bei Schweinen. Deutsche thierärztl. Wochenschr., 1897.

Digitized by Google

in der Lunge und der Leber. Blut theerartig, nicht geronnen, auch nicht im Herzen; Herzkammern stark erweitert und prall, mit Blut erfüllt; Herzmuskel ausserordentlich schlaff, Schnittfläche grauroth, fettig, glänzend.

Als Ursache dieser schweren Erkrankungen müssen toxische Substanzen der Häringslake angesehen werden. Unter den Vergiftungen durch Nahrungsmittel bietet der sog. Botulismus ein sehr charakteristisches Krankheitsbild, das wesentlich aus einem neuroparalytischen Symptomencomplex mit Secretionsstörungen und symmetrischen partiellen oder totalen motorischen Lähmungen besteht. Die Erscheinungen, Veränderung der Schleimabsonderung des Mundes und Rachens, externe und interne Ophthalmoplegie, Aphagie, Aphonie, Obstipation, Urinretention, Athmungs- und Herzstörungen, hängen wahrscheinlich von Läsionen des Centralnervensystems ab.

Der kürzlich entdeckte Erreger des Botulismus ist ein Saprophyt, der sich nach der Schlachtung in dem Fleische ansiedelt und in keiner Beziehung zu den Krankheiten der Schlachtthiere steht. Es ist auch nicht undenkbar, dass er auch im Fisch gedeihen kann, wenn dieser nicht zu stark gesalzen ist. Wie früher erwähnt wurde, hört sein Wachsthum bei 6 proc. Kochsalz auf. Das Gift der Häringslake muss dagegen von Mikrococcen erzeugt sein, weil wegen der Concentration der Lake nur Coccen weiter kommen. Interessant ist, dass das Gift in seinen physiologischen Wirkungen mit dem von Bacillus botulinus erzeugten gewisse Aehnlichkeiten bietet. Leider ist die Krankheitsgeschichte nicht sehr vollständig, und besonders fehlen Angaben über Pupillenweite und Augenbewegungen. Jedenfalls ist eine Aehnlichkeit mit dem Krankheitsbild beim Botulismus unbestreitbar, wenn auch anfangs irritative Erscheinungen mehr hervortretend waren als beim Botulismus gewöhnlich ist.

Die Landwirthe, deren Thiere zu Grunde gingen, hatten die Gewohnheit, den Schweinen Häringslake als futterlusterregendes Mittel zu verabreichen, und diese Vergiftungsfälle rührten daher, dass die Thiere zufälliger Weise grössere Mengen als gewöhnlich erhalten hatten. Es liegt kein Grund vor anzunehmen, dass

diese Häringslaken besondere Eigenschaften besessen haben müssen. Wahrscheinlich wird man sich nicht irren, wenn man annimmt, dass in Häringslake, wenigstens für gewisse Thiere, giftige Producte in sehr kleinen Mengen stets vorkommen.

Wenn in der stark salzhaltigen Häringslake giftige Stoffe producirt werden können, so müssen solche in dem gewöhnlich nicht halb so stark gesalzenen Pökelfleische, wo die Mikrobienvegetation sehr bedeutend ausgiebiger ist, noch leichter entstehen. Nach Stadler[1]) »wird in der Praxis beim Pökeln Kochsalz in Lösungen von ungefähr 6 bis 8% und weniger herab angewandt«. Der Salzgehalt ist oft nicht so gross, dass das Fleisch vor Fäulnis sicher geschützt ist, wenn es längere Zeit aufbewahrt wird. Nun gibt es, wie bekannt, eine Krankheit, den Skorbut, zu dessen Ausbruch unter anderen Ursachen der Genuss von verdorbenen Nahrungsmitteln als Grund angegeben wird. Als besonders unheilvoll gilt das lange Verzehren alten Pökelfleisches. Nach einigen Forschern ist die Ursache dieser Skorbutfälle, welche durch Pökelfleisch hervorgerufen sein sollen, in einem abnormen Reichthum des Blutes an Kochsalz, nach anderen im Mangel an kohlensaurem Kali desselben zu suchen. Keine von diesen Anschauungen ist genügend bestätigt worden. Mir scheint es viel wahrscheinlicher, dass gerade die Stoffwechselproducte der im alten, oft sehr schlecht conservirten Pökelfleische vegetirenden Organismen das krankheitsbringende Agens sind. Es wäre geradezu sonderbar, wenn durch mehrere Monate täglich derartige Stoffwechselproducte von Mikroorganismen ohne Unbehagen verzehrt werden könnten. Die anatomischen Veränderungen bei dieser Krankheit sind ausser den Blutungen nach Leven fettige Degenerationen der Muskeln und der inneren Organe. Dieselben Veränderungen beobachtet man bei mehreren akuten Intoxicationen, aber auch bei chronischen. Bei chronischen Vergiftungen mit Benzol sind Blutungen der Haut und der Muskeln, Fettdegeneration der Nieren, der Leber und des Gefässendothels die hauptsächlichsten

1) Stadler, E., a. a. O., S. 43.

Digitized by Google

Befunde.[1]) Skorbut ähnelt unzweifelhaft einer chronischen Vergiftung. An eine solche zu denken, hatte man früher kaum Veranlassung, und man glaubte eher an eine Infection, die aber auch nie bewiesen wurde. Selbstverständlich sind experimentelle Untersuchungen nöthig, um diese Annahme einer Intoxication zu beweisen. Die angeführten Umstände reichen hin, um den Weg zu zeigen der zur Aufhellung der Aetiologie des Skorbutes einzuschlagen wäre.

V. Ueber einige Fischconserven.

Um die Frage zu entscheiden, ob in den gewöhnlichen Fischconserven eine ausgiebige Vegetation von niedrigen Organismen und eine wesentliche Veränderung des Präparates überhaupt stattfinden kann, ist es nöthig den Salzgehalt der Conserven zu kennen. Da es mit Schwierigkeiten verbunden war, von den Productionsorten exacte Aufschlüsse zu verschaffen, wie viel Salz den verschiedenen Präparaten zugesetzt wird, so wurde ein anderes Verfahren benützt, um zu diesem Ziel zu gelangen. Von Strömling wurden in der vorher beschriebenen Weise Proben mit 8 bis 23% Kochsalz bereitet, und nachdem sie eine Woche alt waren, nach welcher Zeit das Kochsalz in den Proben sich gleichmässig vertheilt hatte, wurde der Kochsalzgehalt der Lake durch Titriren nach Mohr's Methode bestimmt. Mit den so erhaltenen Zahlen wurden die Titrirresultate der Lake verschiedener Conserven verglichen, woraus auf den Procentgehalt dieser Präparate, auf die ganze Masse berechnet, geschlossen werden konnte. Der Procentgehalt Salz der Lake ist selbstverständlich grösser als der der ganzen Masse, aber das Verhältnis liess sich a priori kaum bestimmen, zumal Angaben über den Wassergehalt des von Abfall freien frischen Fisches fehlen. Wenn man annimmt, dass das zugegebene Salz gleichmässig auf die ganze Wassermenge des Fisches vertheilt sei, so stimmen die als Procentgehalt der Lake bekommenen Zahlen bis zu 23,6% mit einem Wassergehalt von 80%. Die Zahl 25,7 fordert einen Procentgehalt Wasser des

1) Siehe Santesson, C. G., Ueber chronische Vergiftungen mit Steinkohlentheerbenzin. Archiv f. Hygiene, Bd. XXXI, 1897, S. 336.

Fisches von 85,6, wenn man annimmt, dass das Salz vollständig gelöst ist. Dieser Wassergehalt scheint aber zu gross zu sein, und es ist nicht unwahrscheinlich, dass eine kleine Menge Salz dem Fisch ungelöst anhaften kann. (S. nebenstehende Tabelle.)

Die Salzmenge des Härings kann sich also auf 20 bis 21%, des Strömlings auf 20, der Sardellen auf 22, des Matjeshärings auf 11 bis 12, der Anjovis auf ungefähr 10, des Appetithärings etwa 12 und des Sauerströmlings auf 8 bis 9% belaufen. Nur Sardellen enthalten also so viel Kochsalz, als gelöst werden kann. Die Titrirresultate auf Häringslake stimmen mit denen von Wehmer[1]) gut überein, und grössere Schwankungen des Salzgehaltes kommen wahrscheinlich nicht vor.

Diese Conserven sind in zwei Gruppen zu theilen. Die eine umfasst Häring, Strömling und Sardellen, bei deren Herstellung nur darauf Rücksicht genommen wird, dass das Rohmaterial längere Zeit hindurch in einer von dem frischen Zustande möglichst wenig abweichenden Form aufbewahrt werden kann. Man

1) Wehmer, a. a. O.

	Procentgehalt Kochsalz															
der ganzen Probe	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
der Lake der Probe	10	11	12,2	13,7	15,1	16,6	17,8	19,2	20	21,3	22,1	23,6	24,5	25,4	25,7	25,9
der gewöhnlichen Häringslake	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24,8	—	—	—
der Strömlingslake	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24,2	—	—	—
der Lake von holländ. Sardellen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25,7	—
der Lake vom Matjeshäring	—	—	—	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
der Anjovislake	—	—	11,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
der Lake vom norweg. Appetithäring aus Stavanger	—	—	—	—	15,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
der Sauerströmlingslake	—	10,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Digitized by Google

verfolgt also den Zweck, soviel als möglich jede Veränderung zu verhindern, und deshalb wird gewöhnlich fast so viel Salz zugesetzt, als sich überhaupt lösen kann, weil man durch die Erfahrung gelernt hat, dass eine wesentlich kleinere Menge gegen Zersetzungen nicht sicher schützt. Wie wir früher gesehen haben, ist bei einem Salzgehalt von ca. 20% die Mikrobienvegetation auch ziemlich bescheiden im Vergleiche zu den niedrigen Concentrationsgraden.

Der anderen Gruppe gehören an: Anjovis, Appetithäring, Matjeshäring und der im nördlichen Schweden allgemein verwendete Sauerströmling. Diese enthalten alle so wenig Salz, dass durch dieses eine bedeutendere Hemmung der Vegetation von Organismen und speciell auch von Stäbchen nicht stattfinden kann. Appetithäringe möglicher Weise ausgenommen sind sie gerade unterhalb der Grenze, wo die Fäulnis aufhört. Bei ihrer Bereitung wird durch eine, jeder Conserve eigenartige Behandlung, bei der ausser dem Salze bisweilen auch Gewürze zugegeben werden, ein von dem frischen Fische wesentlich abweichendes Präparat hergestellt, dessen Geschmack, Geruch, Consistenz und Farbe specifisch sind. Man beabsichtigt also, eine Veränderung in bestimmter Richtung hervorzurufen, über deren Natur noch sehr wenig bekannt ist. Allen gemeinsam ist, dass die Conserve nicht gleich fertig wird, sondern einige Zeit gelagert werden muss, und wenigstens für Sauerströmling sind dabei grössere Temperaturschwankungen zu vermeiden. Ist die Lagerung nicht gelungen, so bekommt das Präparat nicht die richtige Beschaffenheit. Das Verfahren ähnelt in dieser Beziehung dem Reifungsprocesse des Käses. Offenbar ist es erfahrungsgemäss nöthig, um Präparate von der gewünschten Beschaffenheit zu erhalten, den Salzgehalt, der immer innerhalb der ziemlich engen Grenzen von ca. 9 bis 13% wechselt, derart niedrig zu halten. Wenn es gelänge, diese Conserven mit höherem Salzgehalt herzustellen, wäre das sicher schon längst geschehen, weil es bekannt ist, dass mehrere von ihnen gerade wegen der geringen Menge Salz keine grosse Haltbarkeit besitzen. Uebrigens kann die Bereitung, wenigstens was Sauerströmling betrifft,

misslingen, wobei statt des gewünschten Präparates eine faulige Masse entsteht.

Fasst man alles dieses zusammen, so muss man zu der Ueberzeugung kommen, dass das Hauptmoment bei der Fabrication dieser Präparate ein biologischer Process ist, der am ehesten mit dem der Käsereifung verglichen werden könnte, und dass der Salzgehalt so gewählt ist, dass er eine ausgiebige Mikroorganismenvegetation gestattet, ohne dass jedoch Fäulnis eintritt. Man dürfte sich wohl nicht irren, wenn man annimmt, dass der Salzzusatz hier eine ähnliche Rolle spielt wie die Entfernung des Wassers durch Pressen bei der Käsebereitung, nämlich verhindert, dass das Material der stinkenden Fäulnis direct anheimfällt.

Proben von Anjovis und ähnlichen Conserven, wie Appetithäring u. a., enthalten immer reichlich Coccen, wogegen Stäbchen und Hefepilze vermisst werden. Wahrscheinlich ist der Zusatz von Gewürzen mit den antiseptisch wirksamen ätherischen Oelen die Ursache der Abwesenheit von Stäbchen. Angeblich soll der Anjovis auch Borsäure zugesetzt werden. Kam in den von mir untersuchten Proben überhaupt Borsäure vor, so war ihre Menge sicher unbedeutend, weil, wie später erwiesen wird, schon ein Gehalt von 1% Borsäure allein die Entwickelung von Coccen völlig hindert.

Matjeshäring und Sauerströmling enthalten keine Gewürze. In Deckglaspräparaten von der Lake findet man nebst Coccen immer sehr reichlich Stäbchen. Besonders im Matjeshäring haben die Stäbchen bisweilen überall ein so ähnliches Aussehen, dass man eine Reincultur einer Art zu sehen glaubt. Die Stäbchen sind ziemlich dick, theils kurz, theils länger, oft gekrümmt und mit kolbig angeschwollenen Enden.

Da der Sauerströmling durch die Untersuchungen von Mörner[1]) das einzige genauer bekannte Präparat ist und ausserdem ein durch seinen Geruch sehr charakteristisches Product, das Methylmerkaptan enthält, lag es nahe, gerade diese Conserve

1) Mörner, C. Th., Zeitschr. f. physiologische Chemie, Bd. XXII, 1897.

Digitized by Google

zu einer Untersuchung heranzuziehen. Ich habe auch eine grössere Menge Versuche mit mehrfach variirten Nährböden anaërob und aërob angestellt, um aus dieser Conserve ein Stäbchen zu bekommen, das Methylmerkaptan bildet. Alle Versuche sind jedoch bisher misslungen. Möglicher Weise ist das Methylmerkaptan das Product einer Symbiose mehrerer Organismen. Jedenfalls ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass der Bildner des Methylmerkaptans dieses Präparates ein Anaërobier sein soll, obwohl die Merkaptanbildung gerade den obligat anaëroben Arten eigen ist. Wie früher erwähnt, scheint nämlich das Fortkommen dieser Gruppe von Organismen bei einem Salzgehalt von 8% ausgeschlossen zu sein.

Aus Matjeshäring habe ich neulich auf 5proc. Kochsalzgelatine ein Stäbchen isolirt, das in Präparaten aus Culturen in Salzbouillon den erwähnten Stäbchen der Lake sehr ähnlich ist. Das nähere Studium dieser Art steht noch aus.

VI. Conservirungsversuche mit Salpeter, Borsäure und Borax.

Da das Kochsalz keine unbedingt befriedigende entwickelungshemmende Wirkung auf niedrige Organismen besitzt, wäre es gewiss rathsam, sie durch Zusatz anderer Mittel zu verstärken. In dieser Meinung wurden auch Salpeter, Borsäure und Borax in Untersuchung genommen.

Salpeter.

Weil der Kalisalpeter bei dem gewöhnlichen Pökelprocesse fast immer benützt wird, wurden damit Versuche zuerst angestellt. Die Menge, welche in der Praxis beim Einpökeln zugesetzt wird, ist willkürlich, aber nicht sehr gross. Wahrscheinlich überschreitet sie nicht 0,5%. Nothwang[1]) fand höchstens 0,32% Salpeter in den von ihm untersuchten Waaren. Es war zu untersuchen, ob dieses Salz fäulnishemmende Eigenschaften besitzt, welche denen des Kochsalzes überlegen oder gleichwerthig seien. Von Fisch und Fleisch wurden also auf die

1) Nothwang, Fr., a. a. O., S. 127.

Digitized by Google

früher beschriebene Weise Proben mit 5, 10 und 15% Kalisalpeter verfertigt und bei + 25°C. aufbewahrt. Dabei hat sich ergeben, dass von einer conservirenden Wirkung nicht die Rede sein konnte. Auch die Proben mit 15% Salpeter wurden nach kurzer Zeit missfarbig und übelriechend.

Wie Petri und Maassen[1]) nachgewiesen haben, wirkt die Anwesenheit von Salpeter störend auf die Schwefelwasserstoffbildung aus dem Eiweiss. In den erwähnten Proben mit Salpeter fand auch während der ganzen Beobachtungszeit, die aber nur 3 Wochen dauerte, keine Schwefelwasserstoffbildung statt. Wurde dagegen nur 1% Salpeter zugesetzt, so begann sie schon nach 2 Tagen.

Um zu entscheiden, ob vielleicht kleinere Mengen Salpeter, die für sich allein eine sofortige Schwefelwasserstoffbildung nicht hindern, zusammen mit Kochsalz dieselbe zu verzögern oder zu verhindern im Stande sind — auf welche Weise eventuell die conservirende Kraft des Kochsalzes erhöht werden könnte —, wurden Fleischproben mit 5% Kochsalz und 0,5% Kalisalpeter genau wie früher hergestellt, aufbewahrt und untersucht.

20. Versuch.

5% Kochsalz und 0,5% Kalisalpeter. 2 Tage. Die Farbe hell rothbraun. In Deckglaspräparaten reichlich Coccen und Stäbchen. Nitrit ist mit Jodkaliumstärkekleister und Schwefelsäure nachzuweisen. (Eine kleine Menge von der Probe wurde mit Wasser zerrieben und filtrirt. Mit dem Filtrate wurde die Reaction ausgeführt. Filtrat von Controlproben, versetzt mit Salpeter, gab negativen Ausfall der Reaction.) 10 Tage. Reaction sauer. 14 Tage. Reaction neutral. 20 Tage. Ammoniak wird entwickelt. 30 Tage. Die Farbe wie früher; nur die oberste Schicht ist ein wenig dunkler. Geruch unangenehm. Auf der Oberfläche dickes Häutchen von Coccen, Stäbchen, Hefe- und Schimmelpilzen. Die Masse enthält reichlich Gasblasen. 35 Tage. Schwefelwasserstoffprobe die ganze Zeit negativ ausgefallen. (In Controlproben mit nur 5% Kochsalz wurde schon am 4. Tag Schwefelwasserstoff nachgewiesen; in einer Probe mit nur 0,25% Kalinitrat fand keine Schwefelwasserstoffbildung statt.)

Offenbar ist mit Salpeter und Kochsalz ein besseres Resultat zu erzielen als mit Kochsalz allein insofern, als die Entwickelung

1) Petri, R. J. und Maassen, A., Beiträge zur Biologie der krankheitserregenden Bacterien etc. Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte, Bd. VIII, S. 345.

von Schwefelwasserstoff lange Zeit verhindert wird. Salpeter verbessert also im Gegensatz zu den gewöhnlichen Ansichten[1]) die Conservirung mit Kochsalz, ohne dass davon grosse Mengen nöthig sind. Auch wenn man mit Petri und Maassen die Entwickelung des Schwefelwasserstoffs aus Eiweiss durch Einwirkung von Wasserstoff im Entstehungszustande auf den locker gebundenen Schwefel annehmen würde und die H_2S-Bildung als keine sehr eingreifende Veränderung ansieht, muss jedenfalls die Verhinderung des Auftretens dieses Stoffwechselproductes werthvoll sein. Ob dagegen Salpeter auf die Zersetzung in anderen Beziehungen hemmend einwirke, habe ich in Fleischproben leider nicht untersuchen können. Jedenfalls waren die Proben nach 30 Tagen, obwohl die Farbe sehr schön war und die Schwefelwasserstoffbildung völlig unterdrückt wurde, nicht gut conservirt, sondern hatten einen sehr unangenehmen Geruch.

Schon am zweiten Tag wurde Nitrit nachgewiesen. Die Reduction des Salpeters beginnt also gleich am Anfange. Dass aus dem Salpeter auch Ammoniak gebildet wird, ist nicht zu bezweifeln. Der Nachweis desselben ist aber dadurch erschwert, dass auch ohne Salpeter in allen Proben grosse Mengen von Ammoniak entstehen. Gerade in den Proben mit Salpeter scheint die Entwickelung von Ammoniak anfangs ein wenig vermindert zu sein. Später wird sie sehr reichlich. Dass die Salpetermenge in der Pökellake vermindert wird, ist schon von Polenske[2]) beobachtet und auf die Thätigkeit von Mikroorganismen zurückgeführt worden. Nothwang[3]) bestreitet auf Grund seiner Versuche diese Anschauung. Er beobachtete nie alkalische Reaction der Lake, und Probe auf salpetrige Säure war immer negativ ausgefallen. Nichts destoweniger fand auch er in einer Versuchsserie eine stetige Verminderung des Salpetergehalts. Meine Versuche sprechen für eine Zersetzung des Salpeters und stützen also Polenske's Anschauung.

1) Siehe z. B. Stadler, a. a. O., S. 43.

2) Polenske, cit. nach Nothwang.

3) Nothwang, Fr., a. a. O., S. 137.

Digitized by Google

Borsäure.

Obgleich Borsäure in mehreren Ländern als Conservirungsmittel gesetzlich verboten ist, wurden doch damit Versuche angestellt, um die conservirende Kraft des Kochsalzes mit der eines schwachen, bekannten Antisepticums vergleichen zu können. Auch wurde berücksichtigt, dass, wenn Borsäure sich als vorzügliches Conservirungsmittel bewähren würde, sie vielleicht in irgend einer Weise Verwendung finden könnte. Natürlicher Weise müsste sie später aus dem Präparate vollständig entfernt werden können.

I. Fisch.

21. Versuch.

2% Borsäure. 2 Tage. Lake ist gebildet, die Probe hat unangenehmen, nicht faulen Geruch; keine Mikroorganismen. 5 Tage. Die Oberfläche von Schimmel bedeckt. 30 Tage. Keine anderen Organismen als Schimmelpilze. Die oberen Theile der Probe unter dem Schimmelhäutchen sind gelb gefärbt und in eine dickflüssige Masse verwandelt. Beim Umrühren mit Wasser entsteht ein dicker Brei.

22. Versuch.

4% Borsäure. 2 Tage. Reichlich Lake, der Geruch unangenehm wie bei der vorigen Probe. 30 Tage. Keine Mikroorganismen in Deckglastrockenpräparaten. Bei Zusetzen von Wasser und Umrühren zertheilt sich auch diese Probe ziemlich leicht.

II. Fleisch.

23. Versuch.

2% Borsäure. 4 Tage. Die Fleischmasse fest, Lake ist nicht gebildet. Auf der Oberfläche reichlich grosse, grauweisse Colonien eines Sprosspilzes, welcher auch sehr reichlich in den tieferen Theilen vorkommt. 10 Tage. Die Oberfläche von Schimmel völlig bedeckt. 30 Tage. Andere Organismen als Hefe und Schimmel kommen nicht vor. Die oberen Theile der Probe unter dem Schimmelhäutchen sind in eine flüssige Masse verwandelt.

24. Versuch.

5% Borsäure. 4 Tage. Keine Lake, die Oberfläche schwach grau missfarbig. Präparate von der Oberfläche und aus der Tiefe enthalten beide reichlich Hefezellen. 30 Tage. Nur Hefe kommt vor, aber diese äusserst zahlreich; der Geruch unangenehm; Probe auf Pepton negativ, wogegen Tyrosin ziemlich reichlich nachzuweisen ist.

Zwischen den in diesen Proben und in den mit Kochsalz gefundenen Hefepilzen habe ich keine deutlichen Unterschiede

gefunden, und wahrscheinlich sind sie identisch, nach den wenigen positiven Charakteren, die zu finden waren, zu urtheilen.

Der Unterschied in der conservirenden Wirkung des Kochsalzes und der Borsäure ist sehr deutlich. Während das Kochsalz auch bei ziemlich hohen Concentrationen ein ausgiebiges Wachsthum von Coccen und Stäbchen gestattet, treten die Schimmelpilze entschieden zurück, und reichlichere Sprosspilzvegetation kommt nur bei bestimmten Concentrationsgraden vor. Borsäure hemmt dagegen die Entwickelung der Spaltpilze, aber lässt Schimmel- und Sprosspilze, wenigstens im Fleische gut weiter kommen. Die antiseptische Eigenschaft der Borsäure ungerechnet, kommt hiebei wahrscheinlich in Betracht, dass eine sauere Reaction des Nährbodens das Wachsthum der beiden letzten begünstigt, das der Spaltpilze aber hemmt.

Borsäure ist für Fisch und Fleisch ein ganz ungeeignetes Conservirungsmittel. In höherer Concentration werden Fische zwar von Zersetzung durch Organismen bewahrt, anstatt dessen aber scheint die Borsäure selber eine auflösende Einwirkung auf den Fisch zu üben, so dass er beim Umrühren mit Wasser theilweise zerfällt. Dieses Verhalten schliesst ihre praktische Anwendung völlig aus, denn die einzige Möglichkeit für ihre Benützung wäre, dass sie aus der fertigen Conserve sich auswässern liesse. Was das Fleisch betrifft, fällt freilich diese Schwierigkeit weg, dagegen aber übt die Borsäure so geringe hemmende Einwirkung auf die Hefe, dass diese sehr rasch wachsen kann und auch eine nicht unbedeutende Zersetzung mit Bildung reichlicher Mengen Tyrosin hervorzurufen im Stande ist.

Borax.

I. Fisch.

25. Versuch.

1 % Borax. Die Probe sehr fest, ohne Lake; die Fischstücke mit einander stark verklebt. Reaction schwach alkalisch. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten sehr reichlich ziemlich lange, schlanke Stäbchen, wenige Coccen. 6 Tage. Die Probe weicher als anfangs, übelriechend. Auf der Oberfläche Schimmel. Deckglastrockenpräparate zeigen fast nur Stäbchen, alle ungefähr gleich gross. 8 Tage. Ammoniak wird entwickelt. Schwefelwasserstoffprobe negativ. 14 Tage. Schwefelwasserstoffentwickelung. 30 Tage.

Digitized by Google

Die Probe ist sehr weich, enthält Gasblasen und stinkt intensiv. Geruch nach Buttersäure kann deutlich unterschieden werden. Auf der Oberfläche ein dickes Häutchen von Stäbchen. Deckglastrockenpräparate zeigen reichlich Stäbchen mit mittel- oder fast mittelständigen Sporen. Auch Coccen. Indol Spuren. Auf aëroben Platten gehen diese sporenbildenden Stäbchen nicht auf. Eine kleine Menge aus der Probe wird mit sterilem Wasser bei + 80° C. 10 Minuten erwärmt und danach Culturen in Nikiforoff'schen Röhrchen angelegt. In diesen ist aus den Sporen ein Stäbchen ausgewachsen, das sich bei späteren Züchtungen als obligat anaërob erwiesen hat.

26. Versuch.

2% Borax. 4 Tage. Keine Mikroorganismen. 6 Tage. Wenige Coccen in Deckglastrockenpräparaten. 14 Tage. Consistenz wie zu Anfang, Geruch leicht ranzig. Auf der Oberfläche mässig reichlich gelbe Colonien von Coccen. 60 Tage. Consistenz und Geruch wie früher. Die oberste Schicht gelb gefärbt, die übrige Masse hell rosa. Präparate von der Oberfläche enthalten ziemlich reichlich Coccen, von der Tiefe nur wenige.

27. Versuch.

3% Borax. Gewöhnlich tritt kein Wachsthum ein, nur einzelne Proben zeigten nach kurzer Zeit wenige Coccen, aber diese Vegetation verschwand bald wieder.

II. Fleisch.

28. Versuch.

1% Borax. Fleischmasse braunroth, fest, ohne Lake, stark zusammenhängend, wie verkittet. Reaction schwach sauer. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten mässig reichlich Hefen, wenige Stäbchen und Coccen. 4 Tage. Auf der Oberfläche Colonien von Schimmelpilzen und Coccen. Schimmelgeruch. Reaction alkalisch. Deckglastrockenpräparate aus der Tiefe enthalten fast nur Stäbchen, nach Gram nicht färbbar, und dem Ansehen nach alle gleich. Auf aërober Agarplatte gehen nur Stäbchen einer Art auf, die mit Bacterium fluorescens liquefaciens Flügge völlig übereinstimmt. 6 Tage. Die ganze Oberfläche völlig bedeckt mit Schimmel. Die Reaction alkalisch; Ammoniak wird entwickelt. 11 Tage. Geruch unangenehm. Starke Schwefelwasserstoffreaction. Deckglaspräparate zeigen äusserst zahlreiche Stäbchen, die nach Gram gefärbt werden, aber nur wenige, die sich nach dieser Methode nicht färben. Die ersteren sind ziemlich lang und plump und tragen oft Sporen, die gewöhnlich mittel-, seltener endständig sind. Liegt die Spore in der Mitte, so hat das Stäbchen ausgeprägte Clostridiumform. Durch das früher angegebene Verfahren wurde es rein gezüchtet und als obligat anaërob erkannt. 17 Tage. Die Probe sehr weich, graugrün. In Deckglastrockenpräparaten nebst den früher erwähnten Stäbchen reichlich auch Coccen, theils in Ketten, theils unregelmässig angeordnet. 30 Tage. Die Fleischmasse halbflüssig, riecht intensiv übel, fäkal. Die Coccen sind zahlreicher als früher und auch zahlreicher als die Stäbchen. Das Destillat, das auch höchst übelriechend ist, enthält Buttersäure und Spuren von Indol, aber kein Phenol.

Digitized by Google

29. Versuch.

2% Borax. Reaction anfangs alkalisch. 10 Tage. Keine Organismen in Deckglaspräparaten. 16 Tage. Oberfläche mit Schimmel bedeckt. 40 Tage. Keine anderen Mikroorganismen als Schimmel. Die oberste Schicht der Probe ist in eine flüssige Masse zerlegt. 50 Tage. Mässig reichlich Coccen, sehr wenige Stäbchen, Spuren von Pepton.

30. Versuch.

3% Borax. Nach 50 Tagen waren keine anderen Organismen zu finden als einige Schimmelcolonien auf der Oberfläche.

Borax, der doch ein ziemlich wenig giftiger Stoff ist, besitzt nichts destoweniger eine bedeutend hemmende Einwirkung auf das Wachsthum der niedrigen Organismen. Er ist nicht nur dem Kochsalz, sondern in gewisser Beziehung auch der Borsäure überlegen. Es ist dies umsomehr beachtenswerth, als es bekannt ist, dass Borax gegen Bacterien nur eine sehr unbedeutende antiseptische Kraft hat. Wenn Kochsalz in einer Concentration von 20% und Borsäure, was Fleisch betrifft, von 4% eine genügende Hemmung der Organismenvegetation hervorrufen, tritt eine solche schon bei 3% Borax ein. Am wenigsten empfindlich gegen Borax sind Schimmelpilze. Dass auch diese im Stande sind, ziemlich grosse Zersetzungen hervorzubringen, zeigt Probe Nr. 28. In der Conservirungspraxis spielen sie freilich gewöhnlich keine grosse Rolle, aber das beruht darauf, dass sie entweder bei geeigneter Reaction von Spaltpilzen überwachsen werden, oder, selbst wenn sie weiter kommen, nur auf der Oberfläche gedeihen. Dagegen bieten, im Gegensatz zu dem, was bei dem Kochsalze der Fall ist, die Coccen keine ausgeprägte grössere Resistenz als die Stäbchen, und beide treten auch so ziemlich gleichzeitig auf. Auch das Wachsthum der obligat anaëroben Organismen erfährt keine solche Hemmung wie sie durch Kochsalz hervorgebracht wird. Die Zerlegung des Eiweisses in Proben mit 1% Borax wird sicherlich hauptsächlich durch obligate Anaërobien hervorgebracht, welche, so bald der Sauerstoff des Nährbodens durch die Aërobien verzehrt ist, auftreten. Das in den Fleischproben fast allein gefundene aërobe Stäbchen, Bacillus fluorescens liquefaciens, bildet kein Indol, und die Bildung dieses Products muss der Arbeit des anaëroben Stäbchens

Digitized by Google

zugeschrieben werden. Auch deutet der viel ekelhaftere Geruch, den die Boraxproben haben, und wie ihn die Proben mit 5% Kochsalz nie entwickelten, darauf hin, dass der Zersetzungsprocess ein ganz anderer ist.

Wenn Borax sich also als ein gutes bacterienhemmendes Mittel bewährt hat, war weiter zu untersuchen, ob es möglich wäre, durch Zusatz von kleineren Mengen davon zu Kochsalz erheblich bessere Resultate zu erzielen als mit Kochsalz allein. Deshalb wurden Proben mit 5 und 8% Kochsalz und 1 bzw. 0,5% Borax für jede verfertigt und unter denselben Bedingungen wie die vorigen beobachtet.

I. Fisch.

31. Versuch.

5% Kochsalz und 1% Borax. Probe fest, ohne Lake. 3 Tage. Wenige Coccen. Auf der Oberfläche punktförmige Colonien. 8 Tage. Ammoniakentwickelung. 14 Tage. Die Oberfläche mit einem dicken Häutchen von Schimmel bedeckt. 25 Tage. Nur Coccen, aber reichlich. Die oberste Schicht unter dem Schimmel aufgelöst. 45 Tage. Die Probe halbflüssig, übelriechend. Ziemlich reichlich auch Stäbchen. Starke Schwefelwasserstoffentwickelung. Spuren von Indol.

32. Versuch.

8% Kochsalz und 1% Borax. 3 Tage. Coccen. 14 Tage. Häutchen von Schimmel. Ammoniakentwickelung. 45 Tage.[1]) Flüssigkeit ist gebildet, die oberste Schichte sehr weich, Geruch nicht unangenehm. Keine Stäbchen. Kein Schwefelwasserstoff.

II. Fleisch.

33. Versuch.

5% Kochsalz und 1% Borax. Probe fest, dunkel rothbraun, keine Lake. 2 Tage. In Deckglaspräparaten Coccen. 6 Tage. Auf der Oberfläche reichlich Colonien von Coccen nebst einigen von Schimmel. 12 Tage. Ammoniak wird entwickelt. Die Oberfläche völlig bedeckt mit Schimmel. 30 Tage. Das Fleisch unter dem dicken Schimmelhäutchen wird langsam in eine halbflüssige Masse verwandelt. 60 Tage. Nur Coccen. 75 Tage. Die Verflüssigung des Fleisches weiter geschritten. Geruch nicht unangenehm. Reichlich Coccen, einzelne Stäbchen. Kein Schwefelwasserstoff.

Einleuchtend ist, dass durch Zusatz von Borax eine bedeutend bessere Conservirung zu Wege gebracht wurde als durch

1) Infolge äusserer Umstände war es nicht möglich, die Beobachtungszeit für diese und einige folgenden Proben bis zu 75 Tagen auszudehnen.

Digitized by Google

Kochsalz allein. Man vergleiche die Proben 1, 2 und 9 mit diesen letzten. Die Erhöhung der conservirenden Kraft ist in Bezug auf Fleisch viel grösser als für Fisch, und dieses Resultat müsste gerade als ein sehr gutes bezeichnet werden, wenn man bedenkt, dass in Fleischproben mit nur 5% Kochsalz allein Schwefelwasserstoff schon nach 6 und Indol nach 26 Tagen nachzuweisen war. Hier war während der ganzen Beobachtungszeit Schwefelwasserstoff nicht zu constatiren, obwohl er am Ende derselben wahrscheinlich nicht mehr lange auf sich hätte warten lassen, da in Deckglaspräparaten schon Stäbchen zu finden waren. Bei Fisch hat Borax einen viel geringeren Effect hervorgerufen. Jedenfalls ist auch für Fleisch die Conservirung keine ideale; denn nach Wegfall der concurrirenden Bacterienvegetation entwickeln sich die gegen Borax widerstandsfähigeren Schimmelpilze und zersetzen das Material, wenn auch der übelriechende Schwefelwasserstoff und Indol dabei nicht gebildet werden.

Weitere Versuche mit kleineren Mengen Borax gaben folgende Resultate.

I. Fisch.

34. Versuch.

8% Kochsalz und 0,5% Borax. 16 Tage. Nur Coccen und Schimmel. 26 Tage. Die oberste Schicht sehr weich, wenige Stäbchen. Schwefelwasserstoff wird entwickelt. 40 Tage. Die Probe noch weicher, übelriechend. Spuren von Indol, kein Phenol.

II. Fleisch.

35. Versuch.

5% Kochsalz und 0,5% Borax. 4 Tage. Nur Coccen. 6 Tage. Auch einzelne Stäbchen. Die Oberfläche mit Schimmel ganz bedeckt. 8 Tage. Schwache Ammoniakentwickelung. 18 Tage. Schwefelwasserstoffprobe positiv. 30 Tage. Fleischmasse graugrün, sehr weich, übelriechend. Starke Indolreaction, kein Phenol.

36. Versuch.

8% Kochsalz und 0,5% Borax. 18 Tage. Die Oberfläche von einem dünnen Schimmelhäutchen bedeckt. In Deckglaspräparaten nur Coccen. 24 Tage. Sehr wenige Stäbchen. 40 Tage. Die Probe fest, ohne Lake, gut conservirt, von hell rothbrauner Farbe und nicht unangenehmem Geruch. Das Fleisch unter der dünnen Schimmelschicht nicht aufgelöst. Ziemlich reichlich Stäbchen. Kein Schwefelwasserstoff.

Digitized by Google

Nimmt man die Boraxmenge so klein als 0,5%, so ist es, um ein gutes Resultat zu erzielen, nöthig, auch für Fleisch den Salzgehalt bis zu 8% zu steigern. Dadurch aber ist auch eine wesentliche Verbesserung zu Stande gebracht, und das Fleisch ist nach 40 Tagen damit sicher besser conservirt als mit 10% Salz allein, wie die Probe Nr. 11 deutlich zeigt. Durch den höheren Salzgehalt ist auch die Schimmelvegetation herabgedrückt. Betreffend Fisch bringt offenbar 0,5% Borax bei einem Salzgehalt von 8% keine befriedigende Verbesserung der Conservirung hervor. Eine Erhöhung des Kochsalzgehalts um 2% gibt ein besseres Resultat als Zusatz von 0,5% Borax. In den Proben mit 10% Kochsalz war Indol erst nach 68 Tagen nachzuweisen, trat aber in der Probe mit 8% Kochsalz und 0,5% Borax schon am vierzigsten Tage auf. Uebrigens geht auch aus diesen Versuchen hervor, dass für die Conservirung von Fisch ein grösserer Gehalt der Conservirungsmittel als für Fleisch nöthig ist.

Es dürfte nicht aussichtslos erscheinen, durch Zusatz irgend eines unschädlichen Salzes ein erheblich besseres Resultat der Conservirung mit Kochsalz zu erzielen. Schon die Anwendung des Salpeters muss als eine Verbesserung des Pökelprocesses angesehen werden, wenn der Salzgehalt unter 10% sich befindet. Indessen scheint Borax in gewissen Beziehungen besser zu sein, und vielleicht besitzen andere Stoffe noch grössere Vorzüge. Borax muss nämlich andersartig als Salpeter wirken, weil auch geringe Mengen Borax eine vollständige Hemmung der Vegetation von Mikroorganismen hervorbringen, während Salpeter nichts derartiges bewirkt.

VII. Zusammenfassung.

Das Kochsalz ist mit unseren gewöhnlichen fäulniswidrigen Mitteln, die bereits in verdünnten Lösungen wirksam sind, nicht vergleichbar. Stärkere wachsthumshemmende Wirkungen sind erst dann zu erzielen, wenn der Salzgehalt ungefähr so viel beträgt, als das Rohmaterial lösen kann, d. h. ungefähr 20 bis 23%.

Das Kochsalz wirkt nicht auf alle Organismen in demselben Grade hemmend ein, sondern darin sind deutliche Unterschiede

Digitized by Google

zu finden. Im allgemeinen sind diejenigen am empfindlichsten, welche tiefgehende Zersetzungen des Eiweisses hervorrufen.

Wenn die Concentration in den Rohmaterialien bis zu 5% hinaufreicht, hindert das Kochsalz das Fortkommen obligater Anaërobien. Bei einem Gehalt von über 5% findet man nur facultativ anaërobe und aërobe Arten.

In Bezug auf die zwei grossen Gruppen, Coccen und Stäbchen, sind die letzteren, auf welche die intensiveren Zersetzungsprocesse und besonders die sog. Fäulnis zurückzuführen sind, weit empfindlicher als die Coccen.

Innerhalb der Gruppen, Stäbchen und Coccen, gilt die allgemeine Regel, dass die Arten, welche tiefergehende Zersetzungen hervorrufen, gegen Kochsalz empfindlicher sind.

Im allgemeinen wird das Wachsthum der Stäbchen durch 10% Kochsalz aufgehoben, einige aber vertragen bis zu 12% und in Reincultur in Bouillon bisweilen sogar 15%.

Die meisten Coccen gedeihen noch bei einem Salzgehalt von 15% sehr gut, und in Fisch- und Fleischpräparaten zeigt bei diesem Salzgehalt auch eine Hefe die ausgiebigste Vegetation.

Gegenüber gewissen Organismen scheint Kochsalz schon bei einer Concentration, bei der die Vermehrung noch lebhaft ist, bereits eine Verminderung der Umsetzungen des Conservematerials hervorzurufen.

Die Hauptmomente der Wirksamkeit des Kochsalzes als Conservirungsmittel sind also: allgemeine Verlangsamung der Vermehrung der Organismen, Hemmung der kräftiger eiweisszersetzenden schon bei einem verhältnismässig niedrigen Salzgehalte und in Bezug auf gewisse Mikroben auch Herabsetzung ihrer chemischen Leistungen.

Die in gesalzenen Waaren vegetirenden Keime sind wahrscheinlich auch im Stande, kleine Mengen giftiger Producte zu bilden. Vermuthlich sind aber nicht alle Thiere gegen diese Gifte empfindlich, und gewöhnlich werden auch von den disponirten Thieren keine so grossen Mengen verzehrt, dass erhebliche Giftwirkungen auftreten.

Google

Auf die Eigenschaft des Kochsalzes, vorzugsweise die Organismen zu hemmen, welche eine tiefgehende Zerstörung des Eiweisses hervorbringen, ist die Fabrikation mehrerer Fischconserven basirt. Bei ihrer Darstellung wird die möglichst kleinste Menge Salz, welche gerade noch Fäulnis verhindern kann, zugesetzt. Diese hindert aber nicht eine ausgiebige Vegetation nicht fäulniserregender Organismen, wodurch dann der Fisch in Bezug auf Aussehen, Geruch und Geschmack in gewünschter Richtung verändert wird.

Salpeter hebt in Vereinigung mit Kochsalz auch in kleineren Mengen die Schwefelwasserstoffbildung längere Zeit völlig auf, und dessen Gebrauch bei dem Pökelprocesse muss also als wirklich vortheilhaft angesehen werden.

Borsäure bewährt gegenüber Stäbchen und Coccen ihren alten Ruf als gutes fäulnishemmendes Mittel; das Wachsthum der Hefe aber hemmt sie im Fleisch nicht, und eine Zersetzung des Fleisches findet auch bei ihrer Anwendung in nicht geringem Grade statt.

Borax ist ein sehr wirksames, wachsthumhemmendes Mittel; auch in kleineren Mengen bringt er, mit Kochsalz gemischt, eine auffallende Verbesserung der Conservirung von Fleisch hervor. Die Nebenwirkungen empfehlen aber Borsäure und Borax nicht als Zusatz.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Hueppe für die Unterstützung und das stetige Interesse bei Ausführung dieser Arbeit meinen innigsten Dank auszusprechen. Herrn Professor Dr. Sundberg, in dessen Institut zu Upsala einige Vorversuche und ergänzende Arbeiten ausgeführt sind, und Herrn Professor Dr. C. Th. Mörner, der mir mit mehreren guten Rathschlägen beigestanden hat, möchte ich ebenfalls herzlichst danken.

Digitized by Google

Zum Verhalten von Gasflammen im abgeschlossenen Raum.

Von

Assistenzarzt Dr. **Georg Mayer.**

(Aus der Untersuchungsstation für das kgl. II. bayerische Armeecorps am Garnisonslazareth Würzburg.)

(Mit Tafel II.)

Die Veränderungen in der Leuchtkraft der Gasflammen, die hiezu führenden Bedingungen, die eventuellen Schädlichkeiten von Gasflammen überhaupt wurden in den letzten Jahren wiederholt behandelt: J. Rosenthal liess eine Stichflamme von 3 bis 4 cm Höhe in einem cylindrischen Glimmerschlote von 3 cm Durchmesser und 8 cm Höhe brennen; derselbe wurde nach unten durch einen von Löchern durchbohrten Teller, nach oben durch einen die Cylindermündung nicht völlig schliessenden Deckel abgeschlossen: Es zeigte sich, dass die Flamme alsdann aufzuckte, kurze Zeit russte, und dann fast völlig entleuchtet wurde. Rosenthal erklärt dies folgend: Wird die Luftströmung durch starke Verengerung der Abzugsöffnung sehr herabgesetzt, so breitet sich das ausströmende Gas seitwärts aus, diffundirt in die fast ruhende Luft und mischt sich so mit ihr, dass sofort eine nicht leuchtende Flamme entsteht. — Emmerich gibt an, dass bei 6% CO_2-Gehalt der Luft die Gasflammen klein und entleuchtet werden, bei 8% erlöschen. — Bunte fand, dass in einem geschlossenen, kleinen Raume eine Gasflamme bei 6% CO_2 erlischt. — Derselbe untersuchte weiter Schnitt- und Argandbrenner, indem er sie in einem Glascylinder von 1,2 m Höhe

und 0,33 m Durchmesser einschloss; der Cylinder war durch Blechdeckel nach oben und unten geschlossen und hatte Ein- und Austritts-Oeffnungen so gross, dass die normale Zufuhr von Luft und Abfuhr von Verbrennungsproducten stattfand. Durch ein Rohr am Boden des Cylinders wurden die verunreinigenden Bestandtheile zugeführt. Man fand, dass der Einfluss des Wasserdampfes bzw. des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft gegen die Wirkung der CO_2 sehr zurücktritt, erst bei 90% relativer Feuchtigkeit ist eine geringe Helligkeitsabnahme vorhanden. Die Verbrennungsluft wurde dann verunreinigt durch Zumischen von CO_2, Entziehung des O durch eine H-Flamme, Zufuhr einer mit Verbrennungsproducten von Leuchtgas beladenen Luft. Die Veränderung der Verbrennungsluft besteht nach Bunte in einer Verdünnung bzw. Verminderung des O-Gehaltes und zwar wird die Leuchtkraft am meisten beeinträchtigt durch directes Zumischen von CO_2, weniger durch Leuchtgas-Verbrennungsproducte, am geringsten durch Entziehung des O durch eine H-Flamme. — Hübner und Gengler liessen eine Gasstichflamme in einem durch Wasserstrahl-Luftpumpen ventilirten Blechkasten brennen. Ersterer ermittelte die durchschnittlich nach einer bestimmten Brennzeit, letzterer die durchschnittlich bis zum Erlöschen der Flamme sich ansammelnde CO_2 nach v. Pettenkofer's Röhrenmethode. Beide erhielten sehr differente CO_2-Werthe, Hübner 1,431 bis 4,002%, Gengler 3,28 bis 4,54%, trotz möglichst gleichmässiger Gaszufuhr. Es zeigte sich ferner, dass nach einer bestimmten Brennzeit ein CO_2-Maximum auftritt, welches dann gleichbleibt. Bei niedriger Ventilation entleuchtete sich die Flamme, nahm bestimmte Formen an, namentlich kelchförmige. Bei gesteigerter Ventilation zeigte sich eine annähernd gleichmässige Abnahme der CO_2. — Von verschiedenen Seiten wurden ferner Untersuchungen über die Schädlichkeit der Verbrennungsproducte des Leuchtgases angestellt. Nach den einen (Davis, Dennstedt und Ahrens) sollen die Schwefelverbindungen schädlich sein, speciell durch Oxydation der schwefligen Säure zu Schwefelsäure, andere (Lewes, Geelmuyden) widersprechen dem. Die Mengen an salpetriger Säure

Digitized by Google

haben nach Geelmuyden im Gegensatz zu v. Bibra keine nachtheiligen Einflüsse, weil sie zu gering sind. Kohlenwasserstoffe und CO sollen bei guten Brennern überhaupt nicht (Bunte) oder in so geringem Grade vorkommen (Wright, Geelmuyden), dass keine giftige Luftverderbnis möglich ist. Im Gegensatz zur allgemeinen Annahme misst Lewes der erzeugten CO_2 schädliche Wirkung zu. Rubner concedirt üble Nebenwirkungen: Anreicherung der Luft der Wohnräume mit Verbrennungsproducten und Wasserdampf, Wright behauptet eine Luftverderbnis schlecht ventilirter Räume durch normal brennende Gasflammen; nach Lewes soll erhöhte Luftfeuchtigkeit die Leuchtkraft der Flammen herabsetzen.

Die Differenzen in den verschiedenen angeführten CO_2-Werthen, die Beziehungen der Flamme zu Ventilation, Luftfeuchtigkeit, Temperatur, die Veränderungen der Flamme selbst und deren Zusammenhang mit obigen Faktoren, endlich der CO_2-Werth im Moment des Erlöschens waren Punkte, die weitere Versuche rechtfertigten; ich begann mit denselben seinerzeit am physiologischen Institut der Universität Erlangen, konnte mich aus äusseren Gründen aber erst jetzt wieder zeitweise damit befassen.

Ich bediente mich bei meinen Versuchen der im Handel käuflichen Säureballons, in welche mit Stahlmeissel die erforderlichen Löcher für die Zuleitungen geschlagen, mit Glasfeile geglättet, mit Gummistopfen geschlossen wurden. Am Boden waren zwei für Gas- und Luftzufuhr, am Halse ebenfalls zwei für Thermometer und Manometer angebracht, der dreifach durchbohrte Gummistopfen in der Halsöffnung des Ballons diente den Röhren für Luftabfuhr, Einfüllung von Barytlösung, Verbindung mit einem minimetrischen CO_2-Apparat nach J. Rosenthal. Die zu untersuchende Gas-Stichflamme erhielt durch eine beiderseits sehr spitz ausgezogene Glasröhre und einen Glycerin-Regulator eine fixe Anfangshöhe von 3,8 cm und einen in sehr geringen Grenzen schwankenden Gasverbrauch von 11 l pro Stunde, also 0,03 l pro Secunde. Die Ventilationsluft wurde durch einen rings um den Ballonboden führenden, mit feinen

Löchern versehenen Gummischlauch in der am Schlusse näher beschriebenen Weise zur Halsöffnung geführt. Die Flammengrösse wurde mit einem hinter der Flamme befindlichen Millimeter-Papierstreifen auf Spiegelglas gemessen, der mit einem gleichen an der Ballonaussenwand correspondirte, gegen letzteren wurde von einem in schwarzem Papier angebrachten, an der gegenüberliegenden Ballonwand befindlichen Schlitz visirt. Die Luftdichtigkeit war fast absolut: bei künstlichem Unterdruck trat nach 24 Stunden ein Sinken von höchstens 5 mm Wasser ein.

Zur Absorption der CO_2 diente Barytlösung, zur Titrirung 22,2727‰ Schwefelsäure, wovon 1 ccm = 1 cg CO_2, als Indicator Rosolsäure; die verwendeten Ballons hatten 62,3 bzw. 62,22 bzw. 62,55 l. Ballonvolumen und CO_2 wurden unter Mitberücksichtigung von Manometer und Tension des Wasserdampfes in üblicher Weise auf 0^0 und 760 mm Hg berechnet.

Die Barytlösung wurde ½ Stunde nach Versuchsbeendigung durch einen luftdicht aufgesetzten Stechheber in den Ballon entleert, letzterer mehrmals geschüttelt, nach 4 Stunden die Barytlösung in einen Glascylinder gegossen und 12 Stunden dem Absitzen überlassen. Im Ballon angesammeltes Condenswasser wurde vor der Baryteinfüllung durch den der Luftzufuhr dienenden Schlauch entleert.

Die CO_2 der Luft wurde nicht berücksichtigt, da während der Versuche Thüren und Fenster geöffnet blieben und sich nur eine Person im Raume befand.

(Siehe Tabelle I auf S. 243, 244 und 245.)

Die in Tabelle I (I.) aufgeführten Versuche sind in der Weise angestellt, dass die Aspirationsluft durch drei Waschflaschen mit Höllensteinlösung, bzw. Kalilauge, bzw. concentrirter Schwefelsäure gereinigt wurde Das Leuchtgas wurde in einem Chlorcalcium-Thurm getrocknet, die abgesaugte Luft insgesammt durch drei mit Barytlösung beschickte Pettenkofer'sche Röhren geleitet.

In Tabelle I (II.) wurde weder Gas noch Luft gereinigt, letztere in zwei Wasservorlagen angefeuchtet.

Digitized by Google

Tabelle I.

	Datum	Ventilation in Stundenlitern	Dauer in Stunden, Minuten, Secunden	CO_2 in %	Gesammt-Gasverbrauch in Litern	Vbo in Litern [1]	D in Cubikcentimetern [2]	Erloschen + nicht erloschen −	Flammenfigur	Vielfaches der Ventilation in Beziehung zum Ballonvolumen	Zugeführte Luftmenge pr. Secunde in Litern	Vielfaches der zugeführten Luftmenge im Verhältnis zum zugef. Gasquantum p. Secunde
						I.						
1.	4. XI. 97	23	26′	2,5077	4,7	54,149	1,3572	+	XII	0,37	0,064	2,13
2.	29. X.	25	36′	1,3539	6,6	53,349	0,7222	+	XII	0,42	0,07	2,33
3.	19. XI.	25,2	19′	2,7429	3,5	49,506	1,3572	+	XII	0,42	0,07	2,33
4.	8. XI.	26	23′ 30″	3,07	4,2	52,405	1,0262	+	XII	0,43	0,072	2,4
5.	20. XI.	34,7	26′ 30″	3,1535	4,7	52,251	1,6478	+	XII	0,56	0,096	3,2
6.	2. XI.	35,3	34′	1,9182	6,2	53,265	1,0218	+	XII	0,57	0,098	3,27
						II.						
1.	7. VI. 98	56,8	2h 15′	1,8615	22,2	51,611	0,9612	+	XII	0,91	0,16	5,3
2.	8. VI.	60	2h 22′	1,5215	22,5	48,869	0,7435	+	XII	0,96	0,16	5,3
3.	16. VI.	70	3h 57′	2,479	44	48,073	1,192	+	XII	1,12	0,19	6,3
4.	10. VI.	80	4h 35′	2,42	50,1	49,788	1,205	+	XII	1,28	0,22	7,3
5.	9. VI.	83,5	6h 7′	3,279	66,2	49,592	1,5892	+	XII	1,34	0,23	7,7
6.	14. VI.	85	6h 14′	3,2782	67	49,592	1,6295	+	XII	1,37	0,23	7,7
7.	13. VI.	89	8h	2,1594	88	48,072	1,0623	+	XII	1,43	0,25	8,3
8.	20. VIII.	92	9h 47′	3,1648	103	48,852	1,546	+	XII	1,47	0,26	8,7
9.	14. VII.	105	12h 7′	2,5864	132,4	50,738	1,338	+	XII	1,68	0,29	9,7
10.	19. VI.	111	21h 40′	2,2653	231	49,786	1,128	+	XII	1,77	0,30	10,0
11.	18. VI.	125	24h 45′	2,0997	264	48,83	1,025	−	V	2,03	0,35	11,7
12.	17. VI.	145	24h	2,0998	263,2	50,519	1,0603	−	IV	2,33	0,40	13,3
13.	11. VI.	155	21h 45′	2,5602	230,8	47,818	1,2243	−	IV	2,49	0,43	14,3
14.	3. VI.	290	16h 40′	0,7352	177	54,919	0,4037	−	III	4,65	0,80	27,3
15.	4. VI.	350	17h 40′	0,7867	186,9	52,131	0,4101	−	III	5,58	0,90	30,0
16.	5. VI.	590	22h 15′	0,7974	293,3	51,427	0,4101	−	III	9,47	1,64	54,7
17.	14. VII.	622	42h 20′	1,4282	465	52,05	0,7177	−	III	9,99	1,73	57,7

1) Vbo ist das reducirte Ballonvolumen. 2) D ist die aus dem Titre sich ergebende CO_2 in Cubikcentimetern.

	Datum	Ventilation in Stundenlitern	Dauer in Stunden, Minuten, Secunden	CO_2 in %	Gesammt-Gasverbrauch in Litern	Vbo in Litern[1]	D in Cubikcentimetern[2]	Erloschen + nicht erloschen −	Flammenfigur	Vielfaches der Ventilation in Beziehung zum Ballonvolumen	Zugeführte Luftmenge pr. Secunde in Litern	Vielfaches der zugeführten Luftmenge im Verhältnis zum zugef. Gasquantum p. Secunde
						III.						
1.	28. VII. 98	110	2h 3'	1,8522	22,1	47,746	0,8843	+	XII	1,76	0,30	10,0
2.	22. VI.	126	3h 42'	2,3495	41	48,507	1,1394	+	XII	2,02	0,35	11,7
3.	16. VIII.	160	6h 15'	2,8673	67,9	51,850	1,4867	+	XII	2,71	0,44	14,7
4.	17. VIII.	190	13h 21'	2,5996	146,4	49,793	1,2944	+	XII	3,04	0,53	17,7
5.	29. VII.	210	12h 1'	1,8876	132,8	46,848	0,8843	−	IV	3,38	0,60	20,0
6.	12. VIII.	220	33h	2,3577	367	47,834	1,1278	−	IV	3,52	0,61	20,3
7.	23. VI.	250	12h 21'	1,5615	132,7	48,424	0,7561	−	III	4,01	0,70	23,3
8.	17. VIII.	580	26h 18'	1,4324	274	50,105	0,7177	−	III	9,32	1,61	53,7
						IV.						
1.	24. VIII. 98	200	26'	1,2129	4,7	48,607	0,5895	−	III	3,21	0,56	18,7
2.	24. VIII.	330	37'	1,0955	6,8	49,13	0,5383	−	III	5,28	0,92	30,7
3.	24. VIII.	570	1h 24'	0,53287	15,2	48,1	0,2563	−	III	9,11	1,58	52,7
4.	26. VIII.	230	13'	0,8764	2,4	49,72	0,43574	−	II	3,68	0,64	21,3
5.	26. VIII.	330	22'	0,7674	4,0	51,768	0,3973	−	II	5,21	0,92	30,7
6.	26. VIII.	410	25'	0,59906	4,6	51,344	0,3076	−	II	6,59	1,14	38,0
						V.						
1.	30. VIII. 98	250	7'	0,55307	1,4	50,98	0,28195	−	II	4,01	0,7	23,3
2.	30. VIII	340	11' 30"	0,67393	1,9	51,344	0,34602	−	II	5,47	0,95	31,7
3.	29. VIII.	450	16'	0,37762	2,7	50,37	0,1902	−	II	7,19	1,25	41,3
4.	29. VIII.	580	20'	0,43164	3,7	50,475	0,21787	−	II	9,32	1,61	53,7

1) Vbo ist das reducirte Ballonvolumen. 2) D ist die aus dem Titre sich ergebende CO_2 in Cubikcentimetern.

VI.

Durchleitungszeit	CO_2 in % in Pettenkofer'schen Röhren	CO_2 in % im Ballon	Vbo in Litern	D in Cubikcentimetern
1. 19'	0,644	2,7429 (3)	6,4396	0,0415
2. 23,5'	0,798	3,07 (4)	8,333	0,0665
3. 36'	1,041	1,3539 (2)	13,340	0,1357
4. 26'	1,425	2,5077 (1)	8,951	0,1275
5. 34'	1,448	1,9182 (6)	17,129	0,2477
6. 26,5'	1,685	3,1535 (5)	12,960	0,2183

Bei I (III.) wurde der Ballon getrocknet durch heisse Luft, welche durch concentrirte Schwefelsäure geleitet war. Während des Versuches ging das Leuchtgas durch einen Chlorcalciumthurm, die Luft durch zwei Vorlagen mit concentrirter Schwefelsäure.

I (IV.) ist unter den gleichen Bedingungen wie II, V wie III angestellt, VI enthält die in den Pettenkofer'schen Röhren bei I gewonnenen Resultate.

Die CO_2-Werthe bei den Versuchen, in denen die Flamme erlosch, zeigen, so lange mit geringer Ventilation gearbeitet wurde (I 1—6, II 1 und 2), Schwankungen von 1,8%, bei mittlerer und hoher Ventilation, unter Anwesenheit von Luftfeuchtigkeit, betragen die Unterschiede noch 1,1%, bei Ausschluss der Feuchtigkeit etwas weniger, nämlich 1%. Es befinden sich im Ballon durchschnittlich bei geringer Ventilation 2,2, bei mittlerer und hoher 2,7 bei Feuchtigkeitsanwesenheit, 2,4 bei deren Abwesenheit: im Gesammtdurchschnitt also 2,66% CO_2 in dem Moment des Erlöschens der Flamme, die, wie oben bemerkt, 0,03 l Gas pro Secunde zugeführt erhält. — Bei den Versuchen unter II und III, bei welchen die Flamme nicht mehr erlosch, sind zunächst bei geringerer Ventilation grössere Kohlensäuremengen vorhanden als bei höherer; die Kohlensäurewerthe steigen aber an, je länger die Versuche ausgedehnt werden, ferner treten bei den mit Ausschluss der Feuchtigkeit angestellten Versuchen bis um das Doppelte höhere Werthe auf, selbst bei kürzerer Dauer, als bei den ohne Feuchtigkeitsausschaltung angestellten.

by Google

Die in VI. aufgeführten CO_2-Werthe in den Pettenkoferschen Röhren differiren bedeutend von den gleichzeitig im Ballon gefundenen, die Schuld liegt an der für die genannte Methode viel zu kurzen Durchleitungszeit.

Der Zeitpunkt des Erlöschens der Flamme ist natürlicherweise im Verhältnis zur Ventilation hinausgerückt, es findet aber kein proportionales Ansteigen statt, die Versuche ziehen sich vielmehr, je näher der Luftzufuhr, bei der die Flamme nicht mehr erlischt, desto unverhältnismässig länger hin. Es genügt die Steigerung um einige Stundenliter, bei II von 105 auf 111, bei III von 160 auf 190, um die Versuche von 12 auf $21^3/_4$, bzw. von 6 auf 13 Stunden zu verlängern.

Die Verhältnisse der Luftzufuhr weisen verschiedene Besonderheiten auf: Zu einem gleichmässigen Versuchsverlauf, wie er aus dem Procentgehalt an CO_2 und den noch zu schildernden Flammenveränderungen hervorgeht, ist eine mindestens einmalige Lufterneuerung pro Stunde im Ballon nöthig. Versuch II (2) mit 0,96maliger Luftzufuhr zeigt nämlich noch durch seinen CO_2-Werth ungleichmässige Luftmischung, während II (3) mit 1,12maliger Luftzufuhr diese Anforderung erreicht. Ferner müssen, wie aus den gleichen Versuchen erhellt, für unsere vorliegenden Verhältnisse (Feuchtigkeitsanwesenheit, Ballongrösse, Gaszufuhr) ungefähr 0,2 l Luft pro Secunde zu dem obigen Zweck zugeführt werden.

Um das Erlöschen der Flamme zu verhindern, ist unter den gleichen Bedingungen eine ungefähr zweimalige Lufterneuerung, bzw. eine Luftzufuhr von mindestens 0,3 l pro Secunde nöthig, wie aus II (10 und 11) ersichtlich (1,77 × und 2,03 ×, bzw. 0,3 und 0,35 l). Um erhebliche Veränderungen an der Flamme hintanzuhalten, ist (II [11—14]) eine ca. viermalige Lufterneuerung, bzw. Zufuhr von ca. 0,8 l pro Secunde erforderlich; geringere Veränderungen, sowie erhebliche CO_2-Anhäufungen nach längerer Brennzeit werden aber (II [17]) selbst bei zehnmaliger Ventilation pro Stunde und 1,7 l Luftzufuhr pro Secunde nicht vermieden.

Wesentlich anders liegen die Verhältnisse bei möglichstem Ausschluss der Feuchtigkeit; schon hier sei aber bemerkt, dass

auf Rechnung dieses Faktors nur ein Theil, wenn auch ein grosser, zu setzen ist. Bei III (1 und 2) sehen wir, dass jetzt eine zweimalige Lufterneuerung pro Stunde bzw. mindestens 0,3 l Luft pro Secunde nöthig sind zu gleichmässigem Gang der Versuche, also die bei Feuchtigkeitsanwesenheit das Erlöschen der Flamme hindernde Menge; eine mindestens dreimalige Lufterneuerung bzw. 0,6 l Luft pro Secunde verhindern erst das Erlöschen der Flamme, analog den Versuchen mit Feuchtigkeitsanwesenheit brennt bei viermaliger Lufterneuerung und 0,7 l Luft pro Secunde die Flamme ohne erhebliche Veränderungen, ebenso genügen neunmalige Ventilation bzw. 1,6 l Luft pro Secunde nicht, um CO_2-Anhäufung aufzuhalten.

Die Versuche unter IV und V sind mit einer Luftzuleitung, bei der die Flamme nicht mehr erlöschen kann, fortgeführt bis zu dem Augenblick, in dem die Flamme schon dem blossen Auge deutlich erkennbare Veränderungen in der Helligkeit zeigt. Die Zeit ist nach der Ventilation verschieden, eine Gesetzmässigkeit insoferne gegeben, als einer doppelt höheren Luftzufuhr auch die doppelte Versuchsdauer entspricht; im allgemeinen ist die Dauer kurz bemessen: Bei Feuchtigkeitsanwesenheit genügte eine halbe, bei Abwesenheit ungefähr eine Viertelstunde, um bei beliebiger Lufterneuerung die Helligkeit zu beeinträchtigen. Der Procentgehalt der CO_2 sinkt bei IV mit zunehmender Ventilation, bei V ist eher das Gegentheil der Fall; im allgemeinen ist aber zu einer Stetigkeit der Luftwechselverhältnisse die Zeit noch zu kurz, dies geht aus IV (1 und 2) hervor, wo bedeutend mehr CO_2 vorhanden ist als bei den in der Luftzufuhr entsprechenden Versuchen unter II (14 und 15).

Das Verhältnis des in der Zeiteinheit zugeführten Gas- und Luftvolumens gestaltete sich so, dass bei Feuchtigkeitsanwesenheit die sechsfache Menge Luft einen gleichmässigen Versuchsverlauf bewirkte, zwischen der zehn- bis elffachen Menge erlischt die Flamme nicht mehr; bei möglichstem Feuchtigkeitsausschluss sind diese Zahlen wieder bedeutend höher, nämlich das zehn- bzw. 18—20fache. Beide Verhältnisse erfordern die mehr als 20fache Luftzufuhr gegenüber der des Gases, um erhebliche

Digitized by Google

Flammenveränderungen zu vermeiden; bei keiner Steigerung der Ventilation gelang es, die Anhäufung von Verbrennungsproducten, ausgedrückt durch CO_2, zu hindern; dies ist namentlich aus den Versuchen unter IV und V ersichtlich, wo diese Anhäufung trotz mehr als 50facher Luftmenge im Vergleich zu der des Gases schon nach kurzer Zeit deutliche Veränderungen in der Helligkeit der Flamme herbeiführt.

In der Tabelle II (Tafel II) ist die Form und Grösse der Veränderungen, welchen die Flamme bis zu ihrem Erlöschen unterliegt, angegeben, Tabelle III (Tafel II) sucht das Aussehen der Flammenfiguren, soweit möglich, wiederzugeben.

(Siehe Tabelle II und III [Tafel II] am Schlusse der Arbeit.)

Die Flammenfiguren (siehe Tafel II) erscheinen mit einer förmlich gesetzmässigen Regelmässigkeit, und zwar desto prägnanter, je höher die Ventilation und je länger demgemäss die Versuchsdauer; bei geringer oder ausgeschalteter Ventilation treten nur Hauptformen auf, ferner sind bei grösserer Luftzufuhr bestimmte Phasen länger anhaltend, andere eine Art Uebergang. Stets gleichbleibend in allen Versuchen ist die jeweilige Höhe, und zwar derart, das grösseren Stichflammen auch grössere Figuren entsprechen. In den länger dauernden Versuchen lassen sich nun ungezwungen zwölf verschiedene Phasen unterscheiden: Die anfangs hell und ruhig brennende Flamme (I) wird allmählich trüb gelblich (II), dann röthlich (III), wächst, sich verkleinernd und vergrössernd, immer mehr, leuchtet aber andererseits immer weniger (IV), zuletzt nur noch in der Spitze, die dann wechselnd auf Momente farblos wird (V), plötzlich erscheint dann die Flamme auf einer Seite wie abgeschnitten, ebenso rasch kehrt die Vollflamme zurück (VI). Bis hieher haben zwei Perioden längere Dauer, nämlich Nr. III und Nr. IV, die anderen sind Uebergänge. Die Schnittfiguren kehren nun immer öfter wieder, wachsen dabei und lassen allmählich die Form des grossen Kelches erscheinen (VII), der dann seinerseits durch Schnittfiguren zu der in der Spitze leuchtenden Flamme zurückkehrt. Es bildet sich allmählich eine weitere Hauptperiode

Digitized by Google

aus (VIII), in der die schwach leuchtende Flamme durch eine nicht leuchtende und eine Schnittfigur rasch zum grossen Kelch überspringt, der, immer länger und länger anhaltend, wiederum rasch durch Schnittfiguren und nicht leuchtende Flammen zur schwach in der Spitze leuchtenden als Ausgangsform zurückkehrt. Aus dieser Periode entwickelt sich die stets am längsten dauernde (IX), charakterisirt dadurch, dass der grosse Kelch plötzlich zusammensinkt zum kleinen Kelch; es beginnt das gleiche Spiel, der kleine Kelch erscheint immer länger und öfter; die Vollflammen verschwinden dann (X), der grosse Kelch wird niedriger, krümmt sich oft eigenthümlich, dann verschwindet auch er, es ist nur mehr der kleine Kelch vorhanden (XI), der, langsam abwechselnd, grösser und kleiner wird, halbmondartige Formen annimmt; diese Phase leitet über zur letzten (XII), wo der kleine Kelch auf einer Seite plötzlich wie aufgeschnitten aussieht, dabei spitzig werdend; diese Spaltform erscheint zwei bis drei Mal, dauert zuletzt einige Secunden, die Flamme hebt sich vom Brenner um 1 mm ab und verschwindet plötzlich.

(Siehe Tabelle IV auf S. 250.)

Die verschiedenen Flammenperioden (siehe Tab. IV) zeigen in ihrem Erscheinen und ihrer Dauer keine besondere Regelmässigkeit, die Zeiten sind im allgemeinen proportional der Luftzufuhr hinausgerückt, die Unterschiede werden aber um so unverhältnismässig grösser, je höher die Luftzufuhr und je länger demgemäss die Versuchsdauer. Scheidet man die Flammenperioden in zwei Hauptgruppen, nämlich I bis V mit geringeren und VI bis XII mit erheblichen Veränderungen der Flammenform und vergleicht die Dauer der Gruppen, so ist dieselbe in beiden gleich bei niederer und mittlerer Ventilation; bei höherer nimmt in den Versuchen mit feuchter Luft die erste, in denen mit trockener die zweite Gruppe einen bedeutend grösseren Theil der Versuchszeit ein.

(Siehe Tabelle V auf S. 251.)

Digitized by Google

Tabelle IV. **Zeitpunkt des Auftretens der Flammenperioden.**

Nr	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
I. 3	2′	3′	8′	11′		12′		13′		16½′	18′
4	9′	11′	12′	14′	16′		16½′				22′
5	7′	14′	15′	17½′	19′		19½′	20′			24′
6	6′	10½′	20′	22′	14′			26′	30′		31′
6a	7′	9′	13′	16′		21′	22′	24′	27′	28′	30′
6c	10′	19′	20′	21′	22′	23′		24½′	32′		33′
II. 1			34′	47′	53′		1h 1′	1h 3′	2h 2′	2h 6′	2h 12′
2		23′	37′	45′	55′	1h 1′	1h 6′	1h 20′	2h 05′	2h 10′	2h 20′
5	12′	22′	1h 52′	2h	2h 46′	2h 50′	3h 50′	4h 35′	5h 43′	6h —	6h 6′
6	9′	20′	1h	2h 50′	3h 5′	4h 11′	4h 30′	5h 30′	6h		6h 10′
7	9′	21′	1h 20′	3h	4h 30′	6h 7′	6h 23′	7h 15′	7h 47′	7h 53′	7h 55′
8	12′	31′	1h 2′	3h 22′	3h 42′	4h 57′	5h 42′	7h 42′	9h 22′	9h 37′	9h 46′
9	15′	40′	1h 25′	7h 25′	7h 29′	7h 44′	8h 10′	9h 15′	11h 30′	11h 49′	12h
10	12′	41′	2h	12h 40′	13h	16h	17h 20′	18h	20h 55′		21h 37′
11			4h	14¾h	15¼h	15h 55′					
III. 1	13′	33′	38′	45′	50′	56′	59′	1h 33′	1h 57′	2h	2h 2′
2	18′	31	42′	1h 25′	2h 10′	2h 15′	2h 35′	2h 45′	3h 39′		3h 41′
3	15′	33	37′	1h 9′	1h 49′	2h 35′	3h 15′	3h 50′	5h 9′		6h 12′
4	16′	40′	55′	5h 22′	6h 40′	8h 30′	8h 47′	10h 47′	12h 20′	12h 50′	13h 19′
5	11′	56′	1h 26′	4h 11′							
6	17′	30′	9h								
IV. 1	4′	15′									
2	11′	37′									
3	20′	1h 24′									

Tabelle V. **Dauer der einzelnen Flammenfiguren.**

Nr. II	Hell:	Dunkel:								
	23	2								
Nr. III	Sehr hell:	Dunkel:	Heller:	Dunkel:	Heller:	Dunkel:	Heller:	Dunkel:	Heller:	Sehr hell:
	1	2	3	4	6	11	12	18	19	25
Nr. IV	Dunkel:	Heller:	Dunkel:	Heller:	Dunkel:	Heller:	Dunkel:			
	1	2	3	4	5	12	16			
Nr. V	Heller:	Dunkel:	Heller:	Dunkel:	Heller:					
	1	5	11	14	15					

Nr. VI	In d. Spitze heller leucht. Flamme:	Schwächer leuchtende Flamme:	Schnittfigur:	In d. Spitze heller leucht. Flamme:		
	1	3	4	12		
Nr. VII	In d. Spitze leucht. Flamme:	Schnittfigur:	Grosser Kelch:	Schnittfigur:	In d. Spitze leucht. Flamme:	
	1	4	5	15 (41)	16 (42)	
Nr. VIII	In der Spitze leuchtende Flamme:	Nicht leuchtende Flamme:	Schnittfigur:	Grosser Kelch:	Schnittfigur:	Nicht leuchtende Flamme:	In der Spitze leuchtende Flamme:
	1	2	3	3	7	8	9
	1	7	8	8	25	25	26
	1	4	5	8	56	56	57
	1	8	9	10	154	155	156

Nr. IX	In der Spitze leucht. Flamme:	Nicht leucht. Flamme:	Schnittfigur:	Grosser Kelch:	Kleiner Kelch:	Grosser Kelch:	Schnittfigur:	Nicht leucht. Flamme:	In der Spitze leucht. Flamme:
	1	2	2	3	17	18	25	25	26
	1	3	4	8	44	56	61	63	64
	1	2	4	7	31	212	221	221	222

Nr. X	Grosser Kelch:	Kleiner Kelch:	Grosser Kelch:
	1	28	192
	1	18	401

Nr. XI	Kleiner Kelch hoch:	Halbmondform wechselnd mit kleinem Kelch niedrig:	Kleiner Kelch hoch:
	1	25	600—800

Nr. XII	Kleiner Kelch hoch:	Kleiner Kelch niedrig:	Spaltform:	Kleiner Kelch niedrig:	Kleiner Kelch hoch:	Kleiner Kelch niedrig:	Spaltform:	Erloschen:
	1	26	59	62	77	1	22	24.

Die Zahlen bedeuten die Secunde, in der die Figur auftritt. Die Secunden sind mit dem Metronom gemessen.

In allen längeren Versuchen halten die einzelnen Figuren der Perioden jeweils eine ganz bestimmte Zeit an (siehe Tab. V), ebenso zu gleichen Zeiten verschwinden sie und kehren sie wieder, zugleich erscheinen einige Figuren stets besonders lange: In I mit V die heller leuchtenden Flammen, in VI und VII die Schnittfiguren, in VIII grosser Kelch, in IX anfangs grosser, dann kleiner Kelch, letzterer auch in X bis XII; die einzelnen Perioden ziehen sich immer länger hin und leiten so zu den nächstfolgenden über.

(Siehe Tabelle VI auf S. 254 u. 255.)

Die Temperatur (siehe Tab. VI), von der oben blos einige Beispiele angeführt sind, wird in gewisser Art constant mit dem Auftreten der dritten Flammenperiode; es findet bis hieher ein rasches Steigen statt; die höchste Temperatur wird in der achten Periode erreicht, sie sinkt dann, zuerst langsam, dann rasch, speciell in der elften und ist beim Erlöschen der Flamme um mehrere Grade niedriger als in der achten Periode. Steigen und Fallen sind remittirend, indem der jeweiligen vollwerthigsten Flammenfigur die höchste Temperatur entspricht und umgekehrt; gleich anfangs ist das Steigen regelmässig, allmählich immer öfter wird es von Schwankungen bis zu $^3/_4{}^0$ unterbrochen, bis bei Schwankungen von 1^0 C. die zweite Flammenperiode ausgeprägt ist. Ausserdem besteht wiederum ein Unterschied zwischen feuchter und trockener Luft: Bei ersterer werden keine so hohen Temperaturen erreicht, das Ansteigen findet langsamer, mit kleineren Remissionen statt, die Schwankungen betragen in den einzelnen Perioden 2 bis 3^0, und von Periode III bis XI 5 bis 7^0, dagegen liegen die Schwankungen im zweiten Falle in den einzelnen Perioden zwischen 3 bis $4^1/_2{}^0$ und von Periode III bis XI zwischen 8 bis 11^0 C., zugleich wechselt die Temperatur viel häufiger in der Minute und analog damit das Spiel der Flammenfiguren, wie speciell hier bemerkt sei.

(Siehe Tabelle VII auf S. 256 u. 257.)

Die CO_2-Anhäufung zu bestimmten Versuchszeiten und Flammenperioden (siehe Tab. VII) zeigt als niedrigsten Procentgehalt 1,98 bei Periode VI, als höchsten 3,201 bei Periode X, der Durchschnittsgehalt in den 51 Bestimmungen ist 2,66%; um diesen Werth schwankt in den einzelnen Versuchen die gefundene CO_2 in den Grenzen weniger Zehntel. Vergleicht man mit obiger Tabelle die Versuche von Tabelle I, so ist ersichtlich, dass mit dem Auftreten der sechsten Flammenperiode der CO_2-Gehalt bereits ungefähr dieselbe Höhe erreicht hat wie im Moment des Erlöschens der Flamme, dass also die CO_2-Menge mit dem Erscheinen der zweiten Hauptgruppe (s. o.) gewissermaassen constant wird; dies beweist auch der durchschnittliche Procentgehalt an CO_2, der genau mit dem in Tabelle I übereinstimmt.

Schon wiederholt wurde angedeutet, dass neben dem Grade der Lufttrockenheit auch die Temperatur, einerseits durch ihre Höhe, andererseits durch ihre Schwankungen eine Rolle beim Versuchsverlauf zu spielen schien. Die in Tabelle VIII aufgeführten Versuche wurden ausgeführt in der Art, dass obige Faktoren wegfielen. Bei VIII A, B und C war der Ballon durch einen um den Hals geschlungenen, durchlöcherten Gummischlauch mit Leitungswasser von 7° C. gespült, welches sich dann um den Boden des Ballons in einer handhohen Schicht zum Abfluss sammelte. Die Spülung wurde so geregelt, dass die Temperatur sich auf 20° C. erhielt. Bei VIII D wurde der Ballon in Eis eingebaut und ebenfalls berieselt, die Temperatur dadurch auf 10° C. erhalten. Versuch A (1 bis 3), C (1) und D (1) sind mit feuchter, die anderen mit trockener Luft angestellt, endlich ist C (1 und 2) nur bis zum Auftreten der zweiten Flammenperiode fortgesetzt.

(Siehe Tabelle VIII auf S. 259 u. 260.)

Bei einem Vergleich der Versuche von Tabelle VIII mit denen von Tabelle I tritt zunächst hervor, dass sich durch die jetzige Anordnung bei gleicher Luftzufuhr der Zeitpunkt des Erlöschens der Flamme um Stunden hinausschiebt, und zwar um so mehr,

(Fortsetzung des Textes auf S. 257.)

Digitized by Google

Tabelle VI.

								Tempe-
					I. 6b.	Beginn	9h 20′.	
Nach Minuten:	9	17	30	38	47	56	1h 6′	1h 7′
Temp. in ° C.:	46	52	58½	59½	58½	61	59½	59½
Flammenfigur:	III	III	III	IV				
Nach Minuten:	2h 2′	2h 5′	2h 10′	2h 14′	2h 19′	2h 28′	2h 29′	2h 30′
Temp in ° C.:	59	58	60	58½	61	62	61	58
Flammenfigur:							VIII	
Nach Minuten:	2h 50′	2h 52′	2h 57′	2h 58′	3h 10′	3h 11′	3h 11½′	3h 12′
Temp. in ° C.:	59	58	59	59½	56	56½	57	56
Flammenfigur:					IX			
					II. 9.	Beginn	11 h.	
Nach Minuten:	15	1h 10′	2h 50′	3h 30′	4h	5h 15′	6h	7h
Temp. in ° C.:	28,5	33½	35	34½	36	37½	36¾	36⅘
Flammenfigur:	II	III				IV		
Nach Minuten:	9h 35′	9h 50′	10h 3′	10h 17′	10h 30′	10h 45′	11h	11h 32′
Temp. in ° C.:	39¾	39	37⅘	37½	38	38	38½	37½
Flammenfigur:			IX					
					II. 17.	Beginn	5h 30′.	
Nach Minuten:	16h 10′	nach	Secunden:		1	26	36	58
Temp. in ° C.:					45½	45⅘	46	45⅘
Flammenfigur:	III							
Nach Secund.:	2′ 20″	2′ 29″	3′ 12′	3′ 13″	3′ 22″	3′ 38″	3′ 50″	3′ 59″
Temp. in ° C.:	45⅘	46	45⅘	46	45⅘	45¾	45⅕	45⅗
								III. 4.
Nach Minuten:	16	40	41	1h 5′	1h 40′	8h 40′	8h 47′	10h 5′
Temp. in ° C.:	48½	59	59½	58½	59	61	60¾	63¼
Flammenfigur:	II	III	IV	V	V	VII	VII	VIII
Nach Minuten:	10h 14′	10h 30′	10h 47′	11h	11h 20′	11h 39′	11h 43′	12h 20′
Temp. in ° C.:	61	60¼	59	58½	58	56½	55½	55¼
Flammenfigur:	VIII	VIII			IX			X
Nach Minuten:	12h 55′	12h 57′	13	13h 4′	13h 10′	13h 12′	13h 13′	13h 15′
Temp. in ° C.:	55¼	54½	54¼	54	53¾	53½	53⅓	53
Flammenfigur:					XI			
								IV. 3.
Nach Minuten:	21	23	25	27¼	29½	32	35	37
Temp. in ° C.:	43	44	43	44⅕	42⅘	44	44¾	44
Flammenfigur:						II		

Digitized by Google

Tabelle VI.

ratur.

Temp. 18°.

1h 8½′	1h 9½′	1h 11′	1h 12′	1h 13′	1h 15′	1h 16′	1h 18′	1h 19′	1h 21′
61	59½	61	62	60	61	61	62	61	62
			V						
2h 30¼′	2h 30½′	2h 31′	2h 32′	2h 32¼′	2h 40′	2h 45′			
59½	58	60	59	61¾	59	57			
						IX			
3h 12½′	3h 15′	3h 20′	3h 22′	2h 27′	3h 30′	3h 32′	3h 40′		
56	57	56½	55	54	54½	52	49		
		X			XI	XI	XII		

Temp. 17°.

7h 15′	7h 29′	8h 3′	8h 33′	9h 15′	9h 30′	
41½	42	11	41¾	40½	40	
	V	VII	VIII	VIII	IX	
11h 40′	11h 45′	11h 49′	12h 6′			
37½	36	35½	32			
X		XI	XII			

Temp. 21°.

1′ 8″	1′ 9″	1′ 19″	1′ 20″	1′ 21″	1′ 39″	1′ 49″
46	45⅘	45¾	45⅘	45¾	45⅘	45¾
4′ 10″	4′ 16″	4′ 40″	4′ 57″	4′ 59″	5′ 1″	
45⅘	46	46¼	46	45⅘	46	

Beginn 10h 10′.

10h 7′	10h 10′					
62¾	62					
VIII	VIII					
12h 50′						
55½						
XI						
13h 18′	13h 19′	13h 21′				
52	51	49				
	XII	XII				

Beginn 11 h.

55	57	1h 16′	1h 21⅓′			
41½	43	42	44			
			III			

Digitized by Google

Tabelle VII.

CO_2-Analyse mit Rosenthal's minimetrischem CO_2-Bestimmungs-Apparat.

	Datum	Beginn	Ende	Zeitpunkt d. Entnahme	CO_2 in %	Flammenperiode Nr	Ventilation in Stundenlitern	Gasverbrauch in Litern
1	20. XII. 1897	10h 35′	12h 57′	11h 15′	2,813	VIII	50	14,2
				11h 45′	3,157	IX		
				12h 15′	3,157	IX		
				12h 40′	3,201	X		
2	21. XII. 1897	10h 12′	6h 8′	11h 15′	2,776	VII	90	65,7
				11h 45′	2,125	VII		
				12h 10′	2,419	VIII		
				3h —	2,125	VIII		
				3h 13′	2,882	VIII		
				3h 40′	2,367	VIII		
				4h 15′	2,125	IX		
				5h 20′	2,901	X		
				5h 50′	2,859	X		
3	24. XII. 1897	12h 35′	4h 40′	2h —	2,468	VIII	80	44
				2h 15′	2,468	IX		
				3h —	2,500	IX		
				4h 10′	2,970	IX		
				4h 35′	2,881	X		
4	25. XII. 1897	1h 12′	5h 40′	4h 15′	2,987	IX	85	49,1
				4h 50′	2,425	IX		
				5h 20′	2,691	X		
5	26. XII. 1897	1h 12′	6h 12′	3h 15′	2,125	VIII	80	66,5
				3h 45′	2,192	IX		
				4h 10′	2,535	IX		
				4h 30′	2,667	IX		
				4h 55′	2,780	IX		
				5h 10′	2,812	IX		
				5h 25′	2,031	IX		
				5h 40′	2,500	X		
				5h 55′	2,812	X		
				6h 10′	2,679	XI		
6	27. XII. 1897	11h 15	4h 55′	2h 10′	2,156	IX	85	62
				3h —	2,180	IX		
				3h 50′	2,353	X		
				4h 30′	3,107	X		

Digitized by Google

Datum	Beginn	Ende	Zeitpunkt d. Entnahme	CO_2 in %	Flammenperiode Nr.	Ventilation in Stundenlitern	Gasverbrauch in Litern
7. 28. XII. 1897	3h 43′	11h —	6h —	2,803	VII	90	79,2
			7h —	2,157	VIII		
			8h 30′	3,157	IX		
			9h 10′	3,201	X		
			10h 50′	3,104	X		
8. 31. XII. 1897	11h 1′	12h 8′	11h 20′	2,901	IX	40	12
			11h 50′	2,758	X		
9. 1. I. 1898	1h 10′	10h 15′	2h 35′	1,980	VI	90	101
			3h 10′	2,030	VII		
			4h 25′	2,870	VII		
			4h 59′	2,765	VIII		
			5h 30′	3,091	VIII		
			6h —	2,971	IX		
			7h 10′	2,781	IX		
			9h —	2,605	IX		
			10h —	2,777	X		

je stärker die Ventilation. Dies tritt bei trockener Luft in noch höherem Grade ein, ausserdem ist aber hier die Menge der Luftzufuhr, bei der die Flamme nicht mehr erlischt, herabgesetzt auf 0,47 l pro Secunde, während in der Anordnung von Tabelle I (III) hier noch ein sicheres Erlöschen der Flamme zu erwarten war. Bei der sehr kräftigen Ventilation in VIII (C) verzögert sich das Erscheinen der zweiten Flammenperiode um fast $^1/_4$ Stunde gegenüber den Versuchen von Tabelle I. Bei der doppelt niedrigeren Temperatur in VIII (D) ist der Zeitpunkt des Erlöschens bedeutend hinausgeschoben gegen VIII (A und B), wiederum bei trockener Luft verhältnismässig mehr als bei feuchter. — Der Procentgehalt der CO_2 ist im allgemeinen viel constanter geworden, jedoch äussert sich ein deutliches, wenn auch geringes Steigen der CO_2-Anhäufung entsprechend längerer Versuchsdauer, namentlich wenn man die aus dem Titre in Cubikcentimetern berechnete CO_2 heranzieht. Der Durchschnitt des CO_2-Procentgehaltes in den Versuchen mit Erlöschen der Flamme beträgt 2,32%, ist also niedriger wie der auf 2,66% berechnete in Tabelle I. Die Gaszufuhr erfordert, um das Erlöschen bei trockener Luft

Digitized by Google

zu hindern, nur mehr 15,7 mal grössere Luft- als Gasmenge pro Secunde, sonst bestehen keine Besonderheiten.

Der Zeitpunkt des Auftretens der Flammenperioden ist bei der dritten noch wenig, bei den übrigen aber, entsprechend der längeren Versuchsdauer, erheblich verlegt; das Verhältnis des Erscheinens und Ablaufes der Perioden zur Luftzufuhr ist viel regelmässiger, die achte und zehnte, speciell letztere, sind gegenüber früheren Versuchsanordnungen unverhältnismässig länger. Der Wechsel der einzelnen Figuren war bei VI noch ziemlich lebhaft, wenn auch viel langsamer als früher, VII trat nur einmal in Erscheinung, bei VIII und IX zeigte sich für Secunden die Vollflamme, ganz selten eine Schnittfigur, viertelstundenlang hielt, unbeweglich, der grosse, bzw. kleine Kelch an, ebenso dann bei X, XI erschien gar nicht, XII nur im Moment des Erlöschens. Die erste Gruppe der Flammenperioden umfasst diesmal in allen Versuchen einen bedeutend geringeren Zeitraum als die zweite, desto weniger, je stärker die Ventilation.

Um einen weiteren Anhaltspunkt über die Beziehungen zwischen Luft- und Gaszufuhr einerseits und die Intensität der Verbrennung des Leuchtgases andererseits zu gewinnen, wurde die Gesammtmenge des zugeführten Gases auf 0^0 und 760 mm Hg reducirt, und aus der hieraus bestimmten stündlichen Gaszufuhr, der Ventilation und der gefundenen CO_2 die durchschnittlich auf 1 l Luft entfallende CO_2 in Gramm berechnet auf Tabelle IX.

(Siehe Tabelle IX auf S. 260.)

Bei vollständiger Verbrennung des Leuchtgases liefert nach Fischer 1 cbm : 0,570 cbm CO_2 oder 1 l : 1,121 g; diese Grösse wird je nach Zusammensetzung des Gases, abhängig von Kohle und Vercokung, Schwankungen unterworfen.

Die oben aufgeführten CO_2-Werthe steigen bei feuchter Luft langsam bis zu einer stündlichen Luftzufuhr von 83,5 l oder dem 1,34 fachen des Ballonvolumens, schwanken dann zwischen 0,152 und 0,303 bis zu einer Ventilation von 350 l bzw. dem 5,58 fachen des Ballonvolumens, bei 10 maliger Ventilation treffen erst 0,55 g

(Fortsetzung des Textes auf S. 261.)

Digitized by Google

Tabelle VIII.

Datum	Ventilation in Stundenlitern	Dauer in Stunden, Minuten	CO_2 in %	Gesammt-Gasverbrauch in Litern	Vbo in Litern	D in Cubikcentimetern	Erloschen + nicht erloschen −	Flammenfigur	Vielfaches der Ventilation in Beziehung zum Ballonvolumen	Zugeführte Luftmenge pr. Secunde in Litern	Vielfaches der zugeführten Luftmenge im Verhältnis zum zugef. Gasquantum p. Secunde
A.											
1. 21. II. 99	75	5h 25′	2,1634	60,3	55,730	1,2057	+	XII	1,19	0,20	6,7
2. 23. II.	85	8h 9′	2,5509	88	56,534	1,4421	+	XII	1,37	0,23	7,7
3. 27. II.	105	16h 40′	2,6298	180	56,044	1,4738	+	XII	1,68	0,29	9,7
B.											
1. 22. II. 99	110	3h 39′	2,1096	38	56,499	1,1919	+	XII	1,76	0,30	10,0
2. 25. II.	126	6h 53′	2,4920	75,9	55,026	1,3713	+	XII	2,02	0,35	11,7
3. 24. II.	170	11h 20′	2,2282	123,6	56,906	1,2680	−	VI	2,73	0,47	15,7
C.											
1. 28. II. 99	410	38′	0,57696	6,9	58,176	0,33566	−	II	6,59	1,14	38,0
2. 2. III.	450	27′	0,57330	4,6	56,022	0,31886	−	II	7,19	1,25	41,3
D.											
1. 1. III. 99	75	6h 8′	2,1586	65,9	57,590	1,2431	+	XII	1,19	0,20	6,7
2. 1. III.	110	4h 37′	2,1641	49,6	56,260	1,2175	+	XII	1,76	0,30	10,0

Digitized by Google

Fortsetzung zu Tabelle VIII.

Zeitpunkt des Auftretens der Flammenperioden.

Nummer des Versuches		II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
A.	1		25′	54′	1h 45′	2h 13′		2h 20′	3h 25′	4h 20′		5h 25′
	2		30′	1h 3′	3h 5′	3h 48′		4h 5′	5h 31′	6h 55′		8h 9′
	3		45′	2h 20′	5h	6h 32′	4h	8h 45′	11h 15′	15h 5′		16h 40′
B.	1		25′	40′	1h 5′	1h 23′		1h 32′	2h 4′	2h 42′		3h 39′
	2		32′	1h	1h 40′	2h 5′		3h	4h 10′	5h 20′		6h 53′
	3		50′	3h 35′	5h 20′	7h 10′						
C.	1	38′										
	2	27′										
D.	1		32′	59′	2h 7′	2h 55′		3h 5′	4h	4h 48′		6h 8′
	2		22′	38′	1h 20′	1h 40′		2h	2h 45′	3h 30′		4h 37′

Tabelle IX.

Nummer des Versuches		Ventilation pro Stunde in Litern	Gasmenge pro Stunde, auf 0° und 760 mm Hg reducirt, in Litern	CO_2 in Gramm in 1 l Luft
Tabelle I				
I.	1	23	9,82	0,0299
	2	25	9,75	0,0176
	3	25,2	9,51	0,0369
	4	26	9,44	0,0431
	5	34,7	9,23	0,0595
	6	35,3	10,46	0,0326
II.	1	56,8	8,59	0,0633
	2	60	7,93	0,0585
	3	70	9,12	0,0968
	4	80	9,5	0,104
	5	83,5	9,18	0,152
	6	85	9,07	0,156
	7	89	8,8	0,111
	8	92	8,72	0,203
	9	105	9,35	0,147
	10	111	9,3	0,137
	11	125	8,88	0,150
	12	145	9,7	0,159
	13	155	8,66	0,303
	14	290	9,64	0,111
Tabelle I				
II.	15	350	9,17	0,153
	16	590	11,25	0,214
	17	622	8,22	0,550
III.	1	110	8,76	0,118
	2	126	9,09	0,165
	3	160	8,88	0,263
	4	190	9,18	0,273
	5	210	8,78	0,229
	6	220	9,0	0,293
	7	250	8,65	0,229
	8	580	8,87	0,475
Tab. VIII				
A.	1	75	10,07	0,0799
	2	85	9,94	0,169
	3	105	11,85	0,118
B.	1	110	9,65	0,122
	2	126	9,89	0,159
	3	170	10,02	0,192
D.	1	75	10,91	0,0755
	2	110	9,9	0,122

CO_2 auf 1 l Luft. — Bei trockener Luft ist das Steigen rascher und etwas regelmässiger, die Werthe sind durchschnittlich grösser, bei 3,38facher Lufterneuerung zeigen sich erst Schwankungen, bei nahezu 10facher sind 0,475 g vorhanden, ungefähr der gleiche Werth wie bei feuchter. — Bei constanter und niedriger Temperatur steigt, wiederum bei trockener Luft etwas gleichmässiger, die CO_2 langsam an, die erhaltenen Grössen sind wieder niedriger.

In sämmtlichen Versuchen bleibt aber die CO_2 bedeutend zurück hinter der Berechnung Fischer's; es liegt, auch bei einer angenommenen Minderwerthigkeit des benutzten Gases, eine nicht blos ungenügende, sondern auch ungleichmässige Verbrennung vor; dieselbe erzeugt bei niedriger Luftzufuhr nur den zehnten Theil, bei sehr hoher nur die Hälfte des oben genannten Werthes und dokumentirt sich in ersterem Falle durch rasches Erlöschen der Flamme, in letzterem durch die dritte Flammenperiode; der zwischen beiden Extremen liegenden mittleren Luftzufuhr gehören die oben angeführten Schwankungen an, ohne dass sich zu der angestellten Berechnung besondere Beziehungen erkennen lassen.

Um einen Einblick in die Wirkungsweise der Ventilation während der Versuche zu erhalten, wurde dem Ballon der Rauch von brennendem Harz zugeführt unter verschieden starker Thätigkeit der Wasserstrahlluftpumpen. Er bildete im allgemeinen folgende Figuren: Zunächst wurde er aus den Schlauchöffnungen gegen die Wand des Ballons und von dieser, je nach der Ventilation, mehr oder weniger in die Höhe gerissen, bildete dann, einen schmalen Raum um die Flamme freilassend, gegen die Mitte zu überfallende Wirbel; über letzteren erschien eine mit sinkender Luftzufuhr immer breiter werdende Zone, in welcher der Rauch, gerade in die Höhe steigend, hin- und herwogte, bei längerer Dauer trat zuerst an dieser Stelle eine Verdichtung bis zur Undurchsichtigkeit auf, die dann nach auf- und abwärts vorschritt. Oberhalb der beschriebenen Zone wurde der Rauch in Streifen aus dem Hals gerissen, welche sich, vom Halse gegen die nächstliegenden Wandtheile des Ballons ziehend, nach der

Digitized by Google

Mitte fortsetzten, und hier, breiter werdend und zugleich langsamer in ihrer Bewegung, zu kurzen Wirbeln umschlugen. Die Verdichtung erfüllte allmählich, bei jeder Grösse der nun eingeleiteten Zufuhr reiner Luft, den ganzen Innenraum und liess nur am Boden die Streifen der hereingerissenen Luft, in der Gegend des Halses die Streifen hinausgerissenen Rauches erkennen. Bei 10facher Luftzufuhr bedurfte es $^1/_2$ Stunde, bis nach vorheriger Erfüllung des Ballons mit Rauch bis zur Undurchsichtigkeit sämmtliche Rauchmassen wieder entfernt waren.

Nach den Rauchfiguren zu schliessen, sind die Luftströmungen im unteren Drittel, also dem näheren Bereich der Flamme, und im oberen Drittel des Ballons am lebhaftesten, im mittleren Drittel, je nach Luftzufuhr verlangsamt bis zu völligem Stagniren, die demnach hier beginnende Anhäufung der Verbrennungsproducte des Leuchtgases verbreitert sich dann, je nach Ventilation rasch und intensiv, im übrigen Raume.

Einige Verhältnisse der Ballonluft seien noch angeführt: Der Ballon ist, kürzere oder auch längere Zeit nach Beendigung der Versuche, mit den Producten ungenügender Gasverbrennung bis in den Hals angefüllt. Führt man nämlich einen kräftigen Spirituszünder oder einen leuchtenden Gasbrenner bzw. einen Bunsenbrenner in den Hals ein, so erlöschen alle sofort, wenn während des Versuches die sechste Flammenperiode sich zeigte; bis zur fünften erlischt der Spirituszünder, die leuchtende Gasflamme wird entleuchtet, brennt aber, ebenso wie der Bunsenbrenner weiter. — Das Gasgemenge ist ferner schwerer als atmosphärische Luft: Man kann es ausgiessen und so eine Flamme auslöschen; entfernt man nur den Gummistopfen des Halses, so entweicht die Ballonluft auch nach Tagen nicht; durch 10mal stündliche Luftzufuhr ist es nach $^1/_2$ Stunde, durch Umstülpen des Ballons nach $1^1/_2$ bis 2 Stunden möglich, eine Gasflamme im Innern wieder zu gleichmässigem Brennen zu bringen.

Ist die CO_2 durch Baryt absorbirt, giesst man selbst den Baryt aus und führt nun erst Flammen ein, so erlöschen dieselben ebenso wie oben, auch die anderen obigen Verhältnisse bestehen weiter; die angehäufte CO_2 kann daher nur zu einem

Digitized by Google

geringen Theil an den verschiedenen Flammenveränderungen betheiligt sein; diese erscheinen, weil einerseits eine zu geringe O-Zufuhr besteht, andererseits durch die Leuchtgasverbrennung eine weitere Verminderung des O eintritt. Die Verbrennung des Gases zu den an sich unschädlichen Körpern CO_2 und H_2O wird, wie auch Tabelle IX zeigt, herabgesetzt zu Gunsten einer zunehmenden Anhäufung verschiedenster schädlicher Destillationsproducte, Kohlenwasserstoffverbindungen, halbverbrannter Gase; diese Producte machen sich ausserdem durch einen eigenthümlich brenzlichen, fuselartigen Geruch geltend.

Ueberblickt man die Resultate, so vermochte nach den Rauchversuchen die Art der Ventilation einen geeigneten Luftwechsel, speciell um die Flamme herum, zu beschaffen.

Der CO_2-Gehalt im Moment des Erlöschens der Flamme beträgt in 36 bezüglichen Versuchen durchschnittlich 2,55%, schwankt um diesen Werth bei mittlerer und hoher Ventilation in den Grenzen einiger Zehntel und steigt bei geeigneter Versuchsanordnung (s. u.) gering aber deutlich, je länger die Versuchsdauer, namentlich auch bei einer Ventilation, bei der die Flamme nicht mehr erlischt.

Die bei ungenügender Gasverbrennung sich bildenden Flammenveränderungen theilen sich zwanglos in zwölf Perioden, diese wieder in zwei Gruppen, deren erste die geringeren Veränderungen bis zur Entleuchtung, deren zweite die erheblicheren bis zum Erlöschen umfasst (weiteres s. u.), letztgenannte Gruppe dauert durchschnittlich länger. Die Grösse der einzelnen Figur und bei längeren Versuchen die Dauer der einzelnen Periode bleiben gleich bei gleicher Gaszufuhr. Ferner bleibt aber, auch bei ungleicher Gaszufuhr, die Art der jeweiligen Figur gleich: besteht gerade der grosse Kelch, so bleibt dieser, je nach Gaszufuhr grösser oder kleiner werdend (die Dauer ist natürlich entsprechend kürzer bzw. länger). Das Phänomen der Flammenfiguren hat J. Rosenthal (a. a. O.) als Athmung der Flamme bezeichnet; die Flamme sucht durch Vergrösserung Berührung mit möglichst viel Luft zur Befriedigung ihres O-Bedürfnisses, Schnittfiguren und Kelche sind Flammenkegel, in denen nur ein

Theil des ausströmenden Gases brennt; es entsteht das Bild einer farblosen, immer weniger Wärme erzeugenden Flamme durch Verminderung der O-Zufuhr im Gegensatz zu der farblosen, immer heisser werdenden bei erhöhter O-Zufuhr.

Nun noch einige Bemerkungen zur praktischen Verwerthbarkeit der Flammenfiguren: Die späteren Perioden kommen höchstens in den mit CO_2-Ansammlung verbundenen Betrieben von Presshefefabriken, Gärkellern, und hier nur bis zu einer Höhe von $^1/_2$ m über dem Boden, in Betracht. Anders steht es mit der zweiten und dritten Periode: Bunte sah »bei einem relativ geringen CO_2 Gehalt, wie er nicht selten in geschlossenen, nicht ventilirten Räumen vorkommt, eine verhältnismässig grosse Abnahme der Leuchtkraft der Flammen«, nämlich von 0,26 bis 0,65 beim Schnitt-, von 0,18 bis 0,68 beim Argandbrenner; nach Geelmuyden's eingehenden Untersuchungen kann Gasbeleuchtung eine Verunreinigung der Zimmerluft mit CO_2 bis zu 1% nur ausnahmsweise, dagegen eine solche von 0,6 bis 0,8% in schlecht ventilirten, von nicht über 0,2 bis 0,3% in gut gelüfteten Zimmern herbeiführen. In den obigen diesbezüglichen Versuchen (Tab. I, IV, V, VIII C) schwankt die CO_2 zwischen 0,38 und 1,2, es stellte sich trotz hoher Ventilation Periode II und III schon nach Viertelstunden ein. Nach Analogie ist daher die Annahme nicht von der Hand zu weisen, dass die zwei Perioden an Gasbrennern einfacher Construction in kleinen, schlecht oder nicht ventilirten Räumen sich ausbilden könnten; dieser Möglichkeit würde, soweit nur die Brennproducte der Gasflammen in Betracht kommen, gesteuert durch das Auer'sche Gasglühlicht, in dessen Anordnung nach Lübbert und Bräutigam, Renk, Rubner die Mängel der bisherigen Brenner in gesundheitlicher und technischer Beziehung hervorragend verbessert sind.

Der CO_2-Gehalt wird mit Beginn der zweiten Gruppe der Flammenperioden constant, aber nur scheinbar. Wie aus Tabelle IX ersichtlich, wird desto weniger CO_2 erzeugt, je ungenügender die Luftzufuhr, analog sinkt in jedem einzelnen Versuch die CO_2 gegen das Ende immer mehr, gleichzeitig wird aber die Wirkung der Ventilation immer geringer. — Es stehen der Flamme anfangs

Digitized by Google

die Ballonluft und die jeweilige Luftzufuhr zur Verfügung. Zu vollständiger Gasverbrennung ist nach Erismann nöthig: Gereinigtes Leuchtmaterial, möglichst gleichmässige Gaszufuhr, genügende Erhitzung an der Stelle der Verbrennung, eine gewisse Grösse der Luftzufuhr; davon bestehen die ersten zwei Forderungen während des ganzen Versuches, die dritte nur anfangs, später nimmt die Erhitzung ab; die Luftzufuhr war absichtlich meistens zu niedrig. Die Flamme erzeugt nun zunächst nur die Producte genügender Verbrennung, CO_2 und H_2O, bei ungenügender Abfuhr häufen sich diese an, treten an Stelle eines Theiles der Ballonluft, es kommt bald ein Zeitpunkt, in dem zu völliger Verbrennung nicht genügend O vorhanden, daher erscheinen die Flammenperioden, mit der achten sinkt die Erhitzung des Gases am Verbrennungsorte rascher, es entsteht daher immer weniger CO_2, umgekehrt häufen sich die Producte ungenügender Verbrennung, treten ihrerseits an Stelle der noch vorhandenen atmosphärischen Luft, nach einer gewissen Zeit ist diese völlig verdrängt, die Brennproducte erfüllen den Ballon immer stärker, die Ventilationswirkung wird immer ungenügender, die Flamme ist auf den O der jeweils zugeführten Luft angewiesen: von diesem, den sie anfangs nur theilweise benöthigte, braucht sie immer mehr und so erscheint der Zeitpunkt, in dem sie zum Brennen überhaupt mehr O bedürfte als zugeführt ist, sie erlischt. Zu den verschiedenen geschilderten Verhältnissen führt also in letzter Linie die ungenügende Anwesenheit von O.

Zwei Faktoren besitzen nach den vorliegenden Versuchen einen prägnanten Einfluss auf die Leuchtgasverbrennung: Feuchtigkeitsgehalt und Temperatur der umgebenden Luft; von ersterem haben schon Bunte und Lewes eine ungünstige Wirkung auf die Helligkeit von Gasflammen festgestellt.

Die Beziehungen der Luftfeuchtigkeit ergeben zunächst folgende runde Zahlen: Die Versuche verliefen gleichmässig:
bei feuchter Luft mit 1 mal Lufterneuerung im Ballon, oder 0,2 l Luftzufuhr pro Sec. und 6mal grösserer Luft- als Gasmenge pro Sec.,
bei trockener Luft mit 2mal Lufterneuerung im Ballon, oder 0,3 l Luftzufuhr pro Sec. und 10mal grösserer Luft als Gasmenge pro Sec.

Digitized by Google

Die Flamme erlosch nicht mehr:
bei feuchter Luft mit 2mal Lufterneuerung im Ballon, oder 0,3 l Luftzufuhr pro Sec. und 10mal grösserer Luft- als Gasmenge pro Sec., bei trockener Luft mit 3mal Lufterneuerung im Ballon, oder 0,5 l Luftzufuhr pro Sec. und 17 mal grösserer Luft- als Gasmenge pro Sec.

Erhebliche Flammenveränderungen bleiben stets aus bei über 3,5mal Lufterneuerung im Ballon, oder 0,6 l Luftzufuhr pro Sec. und 20mal grösserer Luft- als Gasmenge pro Sec.

Des Weiteren lassen sich aus den 60 Versuchen allgemeinere Schlüsse ziehen, die in Folgendem zusammengefasst seien:

1. Feuchtigkeitsgehalt.

	Hoch	Niedrig
Leuchtgas-Verbrennung:	Weniger intensiv.	Mehr intensiv. (Tabelle IX.)
Folge:	Langsamere Anhäufung der Brennproducte.	Raschere Anhäufung.
Ballon-Temperat.:	Niedriger u. gleichmässiger	Höher und schwankender.
Grund hiefür. Art der Abkühlung des Ballons:	Die zugeführte Luft und der von der Flamme erzeugte Wasserdampf gestatten d. Ansammlung v. Condenswasser und damit eine fortwährende Abkühlung des Ballons.	Der Ballon kann sich nicht abkühlen, da die zugeführte trockene Luft sich erhitzt, und die von der Flamme gebildeten Wasserdämpfe an sich reisst.
Folge:	Das Condenswasser sättigt sich mit den gasförmigen Brennproducten u. verzögert so deren Anhäufung.	Die Brennproducte, nicht theilweise vom Wasserdampf aufgenommen, häufen sich an.
Nöthige Ventilation:	Geringer wegen d. geringeren O-Bedarfes.	Bedeutend grösser wegen des erhöhten O-Bedarfes.
Erhebl. Flammen-Veränderungen:	Spät. erscheinend, Flammenfiguren langsamer wechselnd	Früher erscheinend, rascher Figurenwechsel.
Grund für das bzw. Erscheinen:	Durch die weniger intensive Verbrennung u. dem deshalb geringeren O-Bedarf bleibt die Wirkung der Ventilation länger genügend.	Wegen intensiverer Verbrennung und deshalb vermehrten O-Bedarfes wird die Ventilation eher ungenügend.
Grund für d. bzw. Figurenwechsel:	Die feuchte Luft folgt den Temperaturschwankung., zu denen d. Flammenperiod. in Beziehung stehen, langsamer.	Die trockene Luft folgt den Temperaturschwankungen rascher.

2. Temperatur.

	a) Hoch	a) Niedrig
Verbrennung d. Leuchtgases:	Mehr intensiv.	Weniger intensiv.
Anhäufung der Brennproducte:	Grösser.	Geringer.
Nöthige Ventilation:	Grösser.	Geringer.
Flammenveränderungen:	Früher.	Später.
	b) Constant und niedrig	b) Inconstant und hoch
Verbrennung:	Gleichmässiger, aber weniger intensiv.	Ungleichmässiger, je nach Feuchtigkeitsgehalt der Luft intensiv.
Anhäufung der Brennproducte:	Langsamer und regelmässiger ansteigend.	Rascher, ungleichmässig., sprungweise ansteigend.
Folge bei gleicher Ventilation:	Längere Dauer bis zum Erscheinen erheblicher Flammenveränderungen.	Kürzere Dauer bis zum gleichen Zeitpunkt.

Je niedriger ferner die constante Temperatur ist, desto mehr wird im Ballon sich jeweils findende Feuchtigkeit in ihrer Wirkung der Abkühlung und der Sättigung mit Brennproducten unterstützt, die Störungen in der Gasverbrennung daher entsprechend länger hinausgeschoben bzw. herabgesetzt, bei trockener Luft noch mehr verhältnismässig, da die im Ballon nun befindliche kalte Luft nicht so viel Feuchtigkeit zur Sättigung bedarf, infolge dessen sich Condenswasser bildet, die Versuche denen mit feuchter Luft ähnlicher werden.

Feuchtigkeit und Temperatur verhalten sich in ihren Wirkungen derart, dass erstere mehr die Grösse der Luftzufuhr, letztere mehr den Zeitpunkt der Flammenveränderungen beeinflusst.

Von den weiter oben genannten vier Forderungen Erismann's ist die, »einer genügenden Erhitzung an der Stelle der Verbrennung« zu erweitern in »genügende und gleichmässige Erhitzung«.

Digitized by Google

Die gefundenen Beziehungen von Feuchtigkeit und Temperatur lassen sich allgemein durch folgende Sätze ausdrücken:

Eine leuchtende Gasflamme brennt im abgeschlossenen Raume um so intensiver, bedarf aber desto mehr Sauerstoff, je trockener die Luft und je höher die Temperatur des Raumes;

sie erleidet desto später erhebliche Störungen in der Verbrennung und bedarf desto weniger Sauerstoff, beides jedoch auf Kosten der Verbrennungs-Intensität, je feuchter die Luft, je niedriger und constanter die Temperatur ist.

Literatur.

v. Bibra, Archiv für Hygiene, XV, 2, 1892.

H. Bunte, Chem. Zeitung, XIX, Repet. S. 255. — Verhandlungen d. Deutschen Vereins v. Gas- u. Wasserfachmännern, Stettin 1889, S. 162. — Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung, 1891, S. 310.

Collan, Zeitschrift für analytische Chemie, XXXIV, S. 148.

G. E. Davis, Chem. Zeitung, XVII, S. 690.

Dennstedt und Ahrens, Chem. Zeitung, XIX, Repet. S. 149. — Zeitschrift für analytische Chemie, XXXV, S. 161.

Emmerich, Münchner med. Wochenschrift, 1888, S. 412.

Erismann, Zeitschrift für Biologie, B. XII, S. 320.

Fischer, Chemische Technologie, S. 963.

Gengler, J. D., Erlangen 1896.

Hübner, Sitzungsberichte der phys. med. Gesellschaft zu Erlangen, 1894, Nr. 26.

Vivian und B. Lewes, Chem. Zeitung, XVIII, S. 231.

Lübbert und Bräutigam, Pharmac. Centralhalle, 35, Nr. 36.

Renk, Ref. Hygienische Rundschau, 1894, S. 172.

J. Rosenthal, Münchner med. Wochenschrift, 1888, S. 155. — Gesundheitspflege, II. Aufl., Anh. II von Dr. Schulz.

Rubner, Hygienische Rundschau, 1895, Nr. 5.

Digitized by Google

Erklärung der Flammenfiguren auf Tafel II.

I. Weissgelbe, ganz leucht. Flamme: 3, 8 (5, 1).
II. Trüb röthliche, ganz leuchtende Flamme: 3, 8 (5, 1).
III. 1. Zweidrittel leuchtend: 3, 8 (5, 1).
2. Halb leuchtend: 4, 5.
IV. Oberes Drittel leucht.: 6, 5 (7, 5)
V. 1. Oberes Viertel heller leuchtend: 6, 5 (7, 5).
2. Oberes Viertel schwach leucht.: 6, 5 (7, 5).
VI. 1. Spitze schwach leuchtend: 7, 8.
2. Kleine Schnittfigur: 7, 8.
3. Mittlere Schnittfigur: 9, 4.
4. Grosse Schnittfigur: 10, 7.
VII. 1. Spitze schwach leuchtend: 9, 5.
2. Schnittfigur: 9, 5.
3. Grosser Kelch: 13, 5.
4. Schnittfigur: 9, 5.
VIII. 1. Spitze schwach leucht., klein: 9, 5.
2. Spitze schwach leucht., gross: 11
3. Nicht leuchtend. Flamme: $11^1/_2$.
4. Schnittfigur: 11.
5. Grosser Kelch: 16, 7.
6. Schnittfigur: 11.
7. Nicht leuchtend. Flamme: $11^1/_2$.
8. Schnittfigur: 11.
IX. 1. Spitze schwach leuchtend: 9, 5
2. Nicht leuchtende Flamme: 9, 5.
3. Schnittfigur: 12.
4. Grosser Kelch: 17.
5. Kleiner Kelch: 4, 2.
6. Grosser Kelch: 17.
7. Schnittfigur: 12.
X. 1. Grosser Kelch, hoch: 17.
2. Kleiner Kelch: 4, 2
3. Krummer Kelch: 9, 5.
4. Grosser Kelch, niedrig: 14.
XI. 1. Kleiner Kelch, hoch: 5, 2.
2. Halbmondform: 4, 8
3. Kleiner Kelch, niedrig: 4, 0.
XII. 1. Kleiner Kelch, hoch: 5, 2.
2. Kleiner Kelch, niedrig: 4, 0.
3. Spaltform: 4,2.

Digitized by Google

Fig. I.

Fig. II.

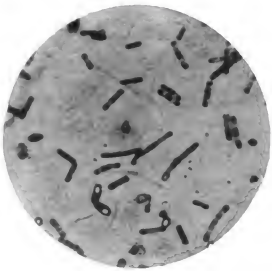


Fig. III.

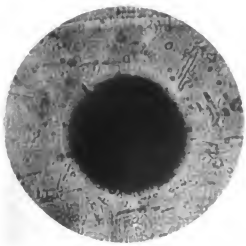


Fig. IV

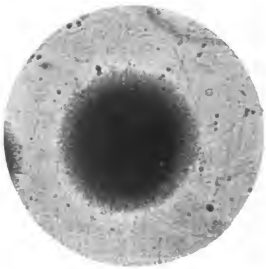


Fig. V.

Fig. I. 48stündig. Zuckeragar. Bacillen von einer Colonie vom Typus B.
Fig. II. 48stündig. Zuckeragar. Bacillen von einer Colonie vom Typus A.
Fig. III. 48stündig. 1% Stärkeagar, Präparat mit verdünnter wässeriger Fuchsinlösung gefärbt, in Luft eingeschlossen. Freie Sporen, sporenhaltige Bacillen (Typus A). Die Stäbchen fast alle granulirt.
(Fig. I, II, III Vergrösserung 1000fach.)
Fig. IV. 2 Tage alte oberflächliche Colonie auf Zuckeragar. Colonie vom Typus B.
Fig. V. 2 Tage alte oberflächliche Colonie auf Zuckeragar. Colonie vom Typus A.
(Fig. IV und V Vergrösserung 25fach.)

Druck von R. Oldenbourg in München.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Mauerfeuchtigkeit.

Von

Dr. **Gino de Rossi,**

Assistent am Institut der Hygiene in Pisa.

Einige Versuche, die ich über die Feuchtigkeit der Neubauten in Pisa angestellt habe, haben mir Anlass gegeben, die von Markl[1]) vor kurzer Zeit angegebene Methode näher zu prüfen und in einer, wie ich glaube, dem praktischen Bedürfnisse entsprechenden Weise zu vereinfachen. Sie ist auf dem Principe gegründet, das Wasser aus dem Mörtel mit sehr concentrirtem Alkohol auszuziehen und das in den Alkohol übergegangene Wasser aräometrisch zu bestimmen. Der Verfasser selbst bekämpft die zwei Einwendungen, die gegen seine Methode gemacht werden können, indem er durch geeignete Versuche beweist: Erstens, dass die Salzmenge, die in Alkohol übergehen kann, ausserordentlich klein ist, da sie ausschliesslich von dem Auflösungsvermögen des im Mörtel enthaltenen Wassers abhängt und einen Fehler, der nicht höher als 0,1 % ist, bewirkt. Zweitens, dass hochgradiger Alkohol aus Mörtel die gleiche Wassermenge herauszieht, wie sie durch Erhitzen ausgesondert werden kann.

Der Grundsatz, auf den diese Methode sich gründet, ist geistreich, ihre Ausführung aber, wie sie der Verfasser vorschlägt, ist nicht richtig und zwingt zu einigen Bemerkungen. In

1) G. Markl, Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Mauerfeuchtigkeit. (Archiv f. Hygiene, Bd XXXIV, 1898, S. 87.)

Digitized by Google

einer ausgetrockneten, mit Glas- oder Gummistöpsel geschlossenen Flasche mischt er eine Mörtelprobe von 10 bis 50 g mit 150 ccm sehr concentrirten Alkohols; sein spec. Gewicht wurde früher mit einem sehr empfindlichen Alkoholometer bestimmt, dessen einzelne Theilstriche je $^1/_{10}$ alkoholometrischen Grades entsprechen. Das Gemisch wurde sorgfältig geschüttelt, durch ein ausgetrocknetes Filter filtrirt und das spec. Gewicht des filtrirten Alkohols mit dem Aräometer bestimmt.

Aus diesen Zahlen wird leicht die Verschiedenheit des Wassergehaltes vor und nach der Mörteleinführung abgeleitet, und daher der Procentgehalt von Wasser im Mörtel bestimmt. Offenbar hat diese Methode zwei schwache Seiten! Erstens, dass die in freier Luft langwierige und wiederholte Filtration eines fast absoluten und daher nach Luftfeuchtigkeit sehr gierigen Alkohols eine Fehlerquelle bietet; zweitens ist die Schwierigkeit der zwei densimetrischen Bestimmungen augenscheinlich, da die Rechnung der in nicht ausserordentlich feuchtem Mörtel enthaltenen Wassermengen sich auf der genauen Bestimmung von Verschiedenheiten weniger Zehntel von alkoholometrischem Grade gründen müsste[1]). Aus diesem Grunde, und da ich die Güte des Principes, auf welchem die Methode sich basirt, schätze, habe ich sie zu modificiren versucht, indem ich sie einfacher und genauer mache, und überhaupt die zu zarten und trügerischen densimetrischen Lesungen vermeide.

Wir können also die Bestimmung der im Mörtel enthaltenen Wassermenge unbeachtet lassen und uns mit der Erkenntnis, ob sie über eine gewisse als passend gehaltene Grenze hinausgeht oder nicht, begnügen. Zu diesem Zwecke habe ich statt des Densimeters zwei kleine Glasschwimmer zu benutzen gedacht, und zwar so, dass sie ein wenig verschiedenes spec. Gewicht haben, resp. den von zwei sehr concentrirten, aber verhältnismässig ungleichen Wassergehalt enthaltenden Alkoholen entsprechen. In der Praxis ist es mir ziemlich leicht gelungen,

1) z. B. 25 g eines Mörtels mit 1,40 % Wassergehalt müssten 0,35 g Wasser enthalten, welche, in 150 ccm Alkohol verdünnt, eine Abnahme der Concentration bewirken, die kleiner als ein Viertel des Grades ist.

Digitized by Google

zwei Glasschwimmer zu construiren, welche das spec. Gewicht des Alkohols von ungefähr 98,8 resp. 98,1 (bei der Temperatur von 15° C.) haben, und die ausserordentlich empfindlich für sehr kleine Veränderungen des spec. Gewichtes der Flüssigkeiten, in welchen sie sich befinden, sind.

Wenn wir 100 ccm eines solchen Alkohols hätten, dessen spec. Gewicht gleich dem des leichteren Schwimmers ist, so müssten wir ihm 0,74 ccm destillirtes Wasser zusetzen, um das spec. Gewicht des zweiten Schwimmers zu erlangen, indem wir natürlich die Flüssigkeitstemperatur bei 15° festhielten.

Am leichtesten kann man hieraus erkennen, ob die Vergrösserung des Wassergehaltes des Alkohols, die von dem Mörtelzusatze abhängt, über die festgestellte Grenze steigt oder nicht.

In Folgendem werde ich den allgemeinen Fall darlegen, aus welchem sich die einzelnen Anwendungen ziehen lassen, je nach der für den Mörtel festgesetzten Grenze der Feuchtigkeit, der angewendeten Mörtelmenge und des verschiedenen spec. Gewichtes der zwei Schwimmer.

Angenommen, dass l die höchste Grenze des erlaubten Wasserprocentgehaltes des Mörtels ist, p das Probegewicht, d die Verschiedenheit zwischen dem Wasserprocentgehalte der zwei hydroalkoholischen Lösungen, deren spec. Gewicht resp. gleich den zwei Schwimmern (bei 15° C.) ist.

Es handelt sich nun um die Bestimmung des Volumens v des Alkohols, dessen spec. Gewicht gleich dem des leichteren Schwimmers ist, welchen wir in der Untersuchung anwenden werden, damit die Vermehrung des spec. Gewichtes des Alkohols, bei einem Mörtelgewicht p und einem Wasserprocentgehalte l gleich d sei, und daher sein spec. Gewicht gleich dem des zweiten Schwimmers sei.

Wenn 100 ccm des leichteren Alkohol d g destillirtes Wasser erfordern, um das spec. Gewicht des schwereren Schwimmers zu erlangen, v ccm werden daher $\frac{d\,v}{100}$ g erforden. Und wenn 100 g Mörtel l g Wasser enthalten, so werden p g $\frac{l\,p}{100}$ enthalten. Des-

Digitized by Google

halb werden wir die Zunahme des spec. Gewichtes des Alkohols haben, wenn wir

$$\frac{d\,v}{100} = \frac{l\,p}{100}$$

also

$$v = \frac{l\,p}{d}$$

berechnen.

Indem wir l und d mit den betreffenden Werthen, die in unserem Falle gleich 1,50 resp. 0,74 sind, ersetzen und $p = 20$ berechnen, (nämlich mit Anwendung von Mörtelproben von 20 g) haben wir $v = \frac{1{,}50 \times 20}{0{,}74} = 40{,}5$ ccm. Wenn also zu 40,5 ccm Alkohol, dessen spec. Gewicht gleich dem des ersten Schwimmers ist, 20 g Mörtel zugesetzt werden, je nachdem die Flüssigkeit ein höheres oder niedrigeres spec. Gewicht als das des zweiten Schwimmers hat, werden wir bestimmen können, ob der Mörtel weniger oder mehr als 1,50% freies Wasser enthält, nämlich ob die Wand, aus welcher die Probe entnommen gewesen ist, als trocken betrachtet werden kann oder nicht.

Eine vollkommene Filtration des mit dem Mörtel gemischten Alkohols ist durchaus nothwendig, um genaue Resultate zu erlangen, sie ist aber sehr langwierig (da man die Flüssigkeit mehrmals filtriren muss) und daher der Alkohol die Luftfeuchtigkeit absorbiren kann; um diesen Uebelstand zu vermeiden, habe ich die folgende Vorrichtung, die ich gleichzeitig mit dem Untersuchungsverlaufe beschreiben will, angewendet (s. Fig.).

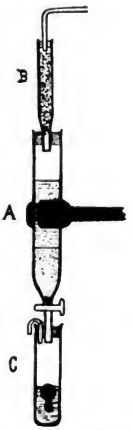
Man benutzt einen Glascylinder (A) mit einem inneren Durchmesser von 3 cm und einem Inhaltsvermögen von ungefähr 70 ccm, mit einem eingeriebenen Glasstöpsel geschlossen, der in ein engeres, mit einem Hahn versehenes Rohr endet. Ueber den Hahn setzt man eine nicht mehr als 1 cm dicke Glaswolle.

Mit einer Pipette lassen sich in das Gefäss 40,5 ccm Alkohol giessen, dessen spec. Gewicht (bei 15°) gleich dem des leichteren

Digitized by Google

Schwimmers ist[1]); man fügt 20 g Mörtel, wie gewöhnlich bereitet und sorgfältig gewogen, hinzu; das Gefäss wird mit eingeriebenem Stöpsel geschlossen und dann schüttelt man das Gemisch 4 oder 5 Minuten lang.

Nachdem der Apparat vermittelst eines Stativs befestigt und an einer Stütze aufgehängt ist, ersetzt man den eingeriebenen Stöpsel durch einem durchbohrten Gummistöpsel, in welchem ein mit Kalkchlorid gefülltes Röhrchen (*B*) endet; das obere Ende dieses Röhrchens ist mit einer Doppelkugel von Kautschuk verbunden, die daher einen Druck auf die Flüssigkeit ausüben kann.



Dann nimmt man eine grosse, vollständig ausgetrocknete, den zweiten Schwimmer enthaltende Flasche (*C*), die nicht mit ihrem eingeriebenen Stöpsel, dagegen mit einem Gummistöpsel verschlossen ist, dieser hat zwei Oeffnungen, deren eine das untere dünne Ende des Apparates trägt, die andere, die mit einem zu einer feinen Spitze ausgezogenen Glasröhrchen versehen ist, die Verbindung zwischen innerer und äusserer Luft erhält. Hierauf öffnet man den Hahn, und durch den mit der Kautschukkugel ausgeübten Druck erhält man eine langsame, aber vollkommene Alkoholfiltration. Ist eine Menge von Alkohol filtrirt, welche die völlige Versenkung des enthaltenen Schwimmers bewirkt, so ist die Flasche aus dem Apparat zu nehmen, mit ihrem eingeriebenen Stöpsel zu verschliessen und in ein Gefäss zu

1) Es ist angezeigt, eine bedeutende Alkoholmenge von bestimmtem spec. Gewicht auf einmal zu bereiten. Zu diesem Zwecke setzt man dem absoluten Alkohol kleine Wassermengen nach und nach zu, indem man das Gemisch immer schüttelt und bei 15° festhält, bis der enthaltene Schwimmer nicht zu steigen anfängt. Sehr lange Zeit erhält seinen Concentrationsgrad ein solcher Alkohol, wenn er in einer mit eingeriebenem Stöpsel versehenen Flasche in dieser Weise bereitet ist. Man kann denselben dann und wann controliren und mit Zusatz absoluten Alkohols die etwaige Zunahme des spec. Gewichts (bei der Temperatur von 15°) wieder herstellen.

Digitized by Google

bringen, das mit Wasser bei der Temperatur von 15° gefüllt ist[1]), um den Alkohol auf diese Temperatur wieder zu führen; hierauf beobachtet man, ob der Densimeter schwimmt oder nicht, woraus klar hervorgeht, ob der Wassergehalt des Mörtels über die bestimmte Grenze steigt oder nicht.

Wie man sieht, ist die Ausführung dieser Methode ziemlich leicht und schnell, andererseits habe ich mich durch zahlreiche, im Vergleich mit der Glässgen'schen Methode ausgeführten Untersuchungen überzeugt, dass sie im Stande ist, sehr constante und sichere Resultate zu liefern, da ich genaue Angaben gewonnen habe mit Mörtelproben, die 1,30, 1,40, 1,46, 1,55, 1,60, 1,64% freies Wasser enthielten.

1) Das wird nicht immer nöthig sein. Offenbar wird es nutzlos sein, die Flüssigkeit zu der Temperatur von 15° wieder zu führen, wenn der Schwimmer mit einer umgebenden Temperatur, die höher als 15° ist, schwimmt, oder wenn er bei einer umgebenden Temperatur, die nicht zu 15° gelangt, versenkt.

Ueber das Verhalten virulenter und avirulenter Culturen derselben Bacterienspecies gegenüber activem Blute.

Von

Dr. **M. Nadoleczny.**

(Aus dem hygienischen Institute der Universität München.)

Bei jeder Infection handelt es sich bekanntlich um einen Kampf zwischen Krankheitserreger und dem zu inficirenden Organismus. Letzterer producirt Schutzstoffe, die sich in reichlicher Menge im circulirenden Blute bezw. Blutserum finden und die Vernichtung von eindringenden Bacterien bewirken. Hochvirulente Keime aber können den Widerstand, welchen der Körper ihrer Entwickelung leistet, überwinden und so eine Erkrankung desselben herbeiführen. Die Virulenz der Bacterien spielt also beim Zustandekommen einer Infection neben anderen Factoren eine wesentliche Rolle.

Es dürfte daher von Interesse sein, zu untersuchen, ob der Unterschied zwischen avirulenten und virulenten Mikroorganismen derselben Species sich auch offenbart, wenn man dieselben auf actives Blut aussät. Entsprechend den Vorgängen im lebenden Körper sollte man erwarten, dass hochvirulente Bacterien durch die bactericiden Substanzen des activen Blutes, die Alexine, nicht oder nur in geringerem Maasse geschädigt werden als avirulente.

Diese Annahme hat nun schon eine Bestätigung gefunden durch Versuche, welche van de Velde im Laboratorium von

Digitized by Google

Denys ausstellte[1]). Durch wiederholte Verimpfung auf Kaninchen gelang es ihm, aus einem Stamm von Staphylococcus pyogenes aureus eine Cultur heranzuzüchten, die 800mal so virulent war als die Ausgangscultur, also in einer 800mal kleineren Dosis als diese denselben Effect beim Versuchsthier in derselben Zeit hervorbrachte. Durch zahlreiche Versuche am (lebenden) Kaninchen, ferner durch Versuche über bactericide Wirkungen von activem Kaninchenblut und Kaninchenserum, schliesslich mit durch Injection abgetödteter Culturen erhaltenem Pleuraexsudat, gelang es ihm, zu beweisen, dass bei gleichen Aussaaten die avirulenten Culturen abgetödtet oder in hohem Grade geschädigt wurden, während die virulenten gar nicht oder wenig in ihrer Entwickelung gehemmt wurden. Hiebei zeigte es sich auch, dass die bactericide Wirkung des Blutes der des Serums nachsteht, während letztere wieder von derjenigen des Exsudates übertroffen wird. Das Wesen der Virulenz beruht, wie van de Velde nachweist, nicht auf einer vermehrten Production von Substanzen, welche die Leukocyten schädigen, abtödten oder die Alexine direkt unwirksam machen. Auch war die Wachsthumsintensität seiner beiden Culturen bei Uebertragung auf andere Nährböden die gleiche, und niemals, wie man annehmen könnte, bei der virulenten Form eine grössere. Hieraus schliesst er dann per exclusionem auf das Wesen von Virulenz, Avirulenz und sagt: »letztere beruhe auf einer besonderen Empfindlichkeit gegenüber bactericiden Substanzen (des Blutes), während die erstere in einer erhöhten Widerstandsfähigkeit gegenüber denselben Substanzen besteht.«

Während diese Versuche am Kaninchen und mit dem Serum dieses Thieres gelangen, war es ihm unmöglich, durch Aussaat auf Serum oder Blut von Hunden die gleichen Resultate zu erhalten. Beide Culturen wurden in gleicher Weise abgetödtet und waren bei der Injection für das lebende Thier gleich

1) Contribution à l'étude de l'immunité. La Cellule t. X 2e. fascicule. Van de Velde. Etude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène.

Digitized by Google

gefährlich, aber es war auch durch fortgesetzte Thierpassagen keine Steigerung der Virulenz für den Hund zu erreichen.

Bei den vorliegenden Versuchen wurden virulente und avirulente Stämme von Bacterium typhi und Vibrio cholerae verwendet, deren Virulenz etwas constanter ist als die des Staphylococcus pyogenes aureus. Die avirulenten Stämme waren seit vielen Monaten oder Jahren auf Agar weitergezüchtet worden, während die virulenten vor dem Versuch durch Thierpassagen stets auf die gleiche Stärke der Virulenz gebracht wurden. Zu diesem Zweck wurden sie einer Reihe von Meerschweinchen von durchschnittlich 200 g Körpergewicht in die Bauchhöhle injicirt. Dies geschah folgendermaassen:

Mit ein und derselben, für diese Versuche immer benutzten Normalöse wurde jeweils von einer 24stündigen, bei 37° C. gewachsenen Agarcultur eine stets möglichst gleiche Menge entnommen und im Verhältnis von 2:1, 1:1, 1:4 und 1:10 ccm in steriler Bouillon aufgeschwemmt. Wenn das Versuchsthier bei Injection von virulenter Typhusaufschwemmung in einer Concentration von einer Oese pro 1 ccm nach 24 Stunden gestorben war, so wurde vom Exsudat aus der Bauchhöhle dieses Thieres, die unter aseptischen Cautelen geöffnet war, eine neue Cultur auf Fleischwasser-Peptonagar angelegt. Nach 24 Stunden wurde wieder einem neuen Meerschweinchen 1 ccm einer vier Mal schwächeren Bouillonaufschwemmung (1 Oese pro 4 ccm Bouillon) dieser Cultur injicirt u. s. w., bis schliesslich eine zehn Mal schwächere Bouillonaufschwemmung sicher in 24 Stunden das Versuchsthier tödtete. Eine solche Cultur wurde nach 24stündigem Verweilen im Thermostaten bei 37° C. sofort zu den Versuchen benutzt.

Die avirulente Cultur wurde ebenfalls 24 Stunden vor dem Versuch frisch angelegt und bei 37° C. auf Agar gezüchtet. So wurden zu den Versuchen immer zwei frische, 24 Stunden alte Reinculturen von Typhusbacillen oder Choleravibrionen benutzt, von denen die eine avirulent war, d. h. in einer Aufschwemmung von einer Oese pro 1 ccm Bouillon für ein Meerschweinchen von ca. 200 g Körpergewicht bei intraperitonealer Injection nicht

Digitized by Google

tödtlich wirkte, während bei der anderen virulenten Cultur die tödtliche Dosis ceteris paribus eine zehn Mal geringere war.

Von diesen beiden Culturen wurden nun wieder Aufschwemmungen in steriler Bouillon gemacht, die zu den Aussaaten in actives Blut etc. dienten. Dieses letztere wurde den lebenden Kaninchen oder Meerschweinchen unter aseptischen Cautelen entnommen und in sterile Reagensröhren in Mengen von je 2 ccm vertheilt. Mittels steriler Pipetten wurden diese dann tropfenweise mit obigen Aufschwemmungen virulenter und avirulenter Bacterien beschickt. Dann wurden hievon sofort Gelatineplatten gegossen, welche die Zahl der ausgesäten Keime angeben sollten. Die Reagensröhren kamen hierauf im Wasserbad in den Thermostaten bei 37° C., und es wurde in regelmässigen Zeiträumen durch neue Aussaaten auf Gelatineplatten ihr Bacteriengehalt quantitativ festgestellt.

Zur Controle dienten Aussaaten auf gleiche Mengen inactivirten, d. h. $^1/_2$ Stunde auf 55° C. erhitzten Blutes und ausserdem zum Theil auch auf je 10 ccm steriler Bouillon.

In dieser Weise wurde bei den folgenden Versuchen verfahren.

I. Bactericide Versuche mit activem Meerschweinchenblut und Vibrio cholerae in virulenter und avirulenter Cultur.

Nr. 1. Zur Aussaat wurde eine Aufschwemmung von je 1 Oese pro 100 ccm steriler Bouillon verwendet.

Grösse der Aussaaten pro 2 ccm Blut:

Zeit		1 Tropfen		5 Tropfen		1 Tropfen in inactivirtes Blut	
		avirulente	virulente	avirulente	virulente	avirulente	virulente
		Culturen					
Gelatineplatten nach:	sofort	260	360	1 940	780	390	450
	3h	30	450	250	19 710	24 640	24 640
	$5^1/_2$h	30	13 880	640	112 850	368 620	393 250

Digitized by Google

Nr. 2. Versuchsanordnung wie bei Nr. 1.

Grösse der Aussaaten pro 2 ccm Blut:

Zeit		1 Tropfen		5 Tropfen		1 Tropfen auf inactivirtes Blut	
		avirulente	virulente	avirulente	virulente	avirulente	virulente
		Culturen					
Gelatineplatten nach:	sofort	1 020	390	1 600	1 760	960	530
	3h	3	550	9	5 160	2 400	7 680
	5h	3	6 380	5	64 400	155 680	275 970
	24h	verunreinigt, aber Blut noch hellroth	443 520 Blut dunkelroth	verunreinigt, Blut mattroth	631 640 Blut dunkelroth	∞ Blut tief-dunkelroth	∞

Nr. 3. Versuchsanordnung wie bei Nr. 1.

Grösse der Aussaaten pro 2 ccm Blut:

Zeit		1 Tropfen		5 Tropfen		10 Tropfen		1 Tropfen auf inactiv. Blut	
		avirulente	virulente	avirulente	virulente	avirulente	virulente	avirulente	virulente
		Culturen							
Gelatineplatten nach:	sofort	450	800	3 300	3 360	2 240	3 380	450	1 440
	3h	3	10	10	190	10	580	1 120	26 610
	5h	0	10	0	830	12	4 260	86 240	549 470
	24h	0	818 050	0	645 520	124 590	889 500	∞	2 428 600

Die Farbe des Blutes ist in den Röhren, welche mit virulenten Keimen beschickt waren, tief dunkelroth geworden, während sie in den anderen Röhren hellroth geblieben ist.

Zu diesen drei Versuchen mit Vibrio cholerae wurden stets dieselben Stämme benutzt, der virulente jedoch vor jedem Versuch aufs neue hinsichtlich seiner Virulenz durch den Thierversuch geprüft und nur in dem oben angegebenen Virulenzgrade verwendet. Aus diesen Versuchen kann man nun folgende Schlüsse ziehen:

Virulente Stämme von Vibrio cholerae werden durch actives Meerschweinchenblut zwar bei kleinen Aussaaten in ihrem Wachsthum etwas behindert, bei grösseren Aussaaten jedoch nicht mehr geschädigt.

Digitized by Google

Avirulente Stämme von Vibrio cholerae werden durch actives Meerschweinchenblut bei kleinen Aussaaten in hohem Grade geschädigt oder sogar ganz abgetödtet, bei grösseren Aussaaten wird ihre Entwickelung in den ersten 5 Stunden ebenfalls verhindert.

Es verhalten sich also die virulenten Culturen bei gleichen Aussaatmengen und gleichen Wachsthumsbedingungen resistenter gegen die bactericiden Substanzen des activen Blutes als die avirulenten, während auf inactivirtem, d. h. eine halbe Stunde auf 55° C. erwärmtem Blute eine wesentliche Differenz in der Wachsthumsintensität nicht zu Tage tritt.

Die Erscheinung, dass bei Aussaaten von 1, 5 und 10 Tropfen Bouillonaufschwemmung die sofort angelegten Gelatineplatten nicht Coloniezahlen aufweisen, die sich wie 1:5:10 verhalten, dürfte darauf beruhen, dass, während die ersten Platten gegossen werden, schon die bactericide Action des activen Blutes auf die übrigen Aussaaten einwirkt. Die später gegossenen Platten enthalten daher unverhältnismässig weniger Colonien als den grossen Aussaaten entsprechend zu erwarten wäre. Kleinere Unregelmässigkeiten in den obigen Zahlenreihen fallen innerhalb der Grenzen unvermeidlicher Fehler und beeinträchtigen auch die Resultate in keiner Weise.

Hinsichtlich der Farbveränderungen des activen Blutes wäre noch zu bemerken, dass dieselben, wie dies schon van de Velde angibt, einen Indicator für das Wachsthum der Keime darstellen. Das ursprünglich hellrothe arterielle Blut wird mit steigender Vermehrung derselben immer dunkler, während es seine Farbe unverändert beibehält, wenn die ausgesäten Keime abgetödtet werden. Der Grund hiefür ist in dem Sauerstoffconsum der Bacterienculturen zu suchen. Die Farbdifferenzen sind schon nach 5 Stunden gewöhnlich deutlich sichtbar und zwar nicht nur zwischen dem mit avirulenten Keimen beschickten Blut und demjenigen, in welchem virulente Keime sich vermehren. Die letzteren zeigen auch unter sich meistens deutliche Farbunterschiede von mattroth bis tief dunkelroth, je nach der Zahl der ausgesäten bezw. gewachsenen Bacterien. Meist sind die beiden

Digitized by Google

Culturen noch nach 24 Stunden deutlich an der Farbe ihres Nährmediums makroskopisch zu erkennen, auch wenn die avirulenten sich doch noch vermehrt haben, während sich natürlich innerhalb der virulenten Gruppe die feineren Nuancen nach dieser Zeit verwischt haben. Das inactivirte Blut ist stets lackfarben.

II. Bactericide Versuche mit activem Blut von Meerschweinchen oder Kaninchen und verschiedenen Stämmen von Bacterium typhi in virulenter und avirulenter Cultur.

Nr. 4. Versuchsanordnung wie bei Nr. 1. Aussaaten von Typhus x und Typhus y auf je 2 ccm Meerschweinchenblut aus Bouillonaufschwemmung in Mengen von:

Zeit		1 Tropfen		5 Tropfen		10 Tropfen		1 Tropfen auf inactiv. Blut	
		avirulente (x)	virulente (y)	avirulente	virulente	avirulente	virulente	avirulente	virulente
		Culturen							
Gelatineplatten nach:	sofort	130	190	300	400	3 900	540	270	280
	3h	5	70	5	1 580	22	4 930	1 470	2 560
	5h	3	300	5	38 930	6	146 600	40 600	1 113 730
	24h	142 900	2010 600	165 100	1393 140	194 660	2651 260	2718 780	3 232 770

Nr. 5. Versuchsanordnung wie bei Nr. 1. Aussaaten auf Kaninchenblut.

Zeit		1 Tropfen		5 Tropfen		10 Tropfen		1 Tropfen auf inactiv. Blut		
		avirulente (x)	virulente (y)	avirulente	virulente	avirulente	virulente	avirulente	virulente	
		Culturen								
Gelatineplatten nach:	sofort	860	940	3 400	3 000	4 500	5 100	670		diese Reihe ist verunglückt.
	$2^1/_2$h	350	430	1 470	2 600	5 700	3 550	1 250		
	5h	740	1 450	73 920	128 130	231 600	143 800	160 160		
	24h	619 940	559 330	616 000	862 400	790 950	∞	1 301 000		

Aus den beiden letzten Versuchen scheint hervorzugehen, dass einerseits die Widerstandsfähigkeit der virulenten Cultur bedingt sein könnte durch eine stärkere Wachsthumsenergie dieser Cultur, wie die Zahlen der dritten (Control-) Reihe in Versuch Nr. 4

Digitized by Google

zeigen. Andererseits war die bactericide Wirkung des Kaninchenblutes bedeutend geringer als die des Meerschweinchenblutes, was aus einem Vergleich von Versuch Nr. 4 und 5 hervorgeht.

Es wurde daher die Versuchsanordnung im folgenden dahin geändert, dass mehr Controlversuche gemacht wurden, durch welche das Wachsthum beider Culturen auf guten Nährböden, wie Bouillon und inactivirtem Blut, beobachtet werden sollte. Gleichzeitig wurde zu den Versuchen ein zweiter frischer Typhusstamm (C) benutzt, von dem eine Cultur längere Zeit nicht zu Thierversuchen verwendet worden war, während die andere auf gleiche Virulenz gebracht wurde, wie die virulenten Culturen in den vorigen Versuchen.

Nr. 6. Zur Aussaat wurde eine Aufschwemmung von je einer Oese pro 400 ccm steriler Bouillon verwendet, die von 24 stündigen Agarculturen des Bacterium typhi (C) genommen war. Die Aussaaten erfolgten auf je 2 ccm activen und inactivirten Meerschweinchenblutes und auf je 10 ccm steriler Bouillon in folgenden Quantitäten:

Zeit		5 Tropfen 2 ccm actives Blut		10 Tropfen 2 ccm actives Blut		1 Tropfen 2 ccm inactivirtes Blut		3 Tropfen 2 ccm inactivirtes Blut		1 Tropfen 10 ccm Bouill.	
		avirulent	virulent	avirulent	virulent	avirulent	virulent	avirulent	virulent	avirulent	virulent
Gelatineplatten nach:	sofort	1 280	1 600	1 420	1 920	450	640	1 600	1 530	45	36
	1h	—	—	—	—	320	450	1 650	900	50	60
	2h	—	—	—	—	240	320	1 470	1 470	36	44
	3h	190	30	220	100	450	640	1 730	1 730	40	66
	5h	30	8	90	30	11 520	5 760	54 200	44 350	900	450
	24h	∞	∞	∞	∞	im mikrosk. Präparat zahlreiche Bacterien.					

(Versuch Nr. 7 siehe Seite 285.)

Die Versuche Nr. 4, 5, 6 und 7 ergeben nun, dass nur dort, wo zwei verschieden virulente Culturen ein und desselben Stammes (Typhus *C*) mit einander verglichen wurden, eine merkliche Differenz in der Wachsthumsintensität zwischen beiden Culturen nicht auftrat. Es stellte sich aber durch nachträgliche Prüfung der Virulenz heraus, dass diese Eigenschaft beiden Culturen in relativ nicht sehr verschiedener Stärke eigen war.

(Fortsetzung des Textes auf Seite 286.)

Digitized by Google

Nr. 7. Versuchsanordnung wie bei Nr. 6. Als virulente Cultur wurde dieselbe von Versuch Nr. 6, nämlich Bact. typhi (C), als avirulente jedoch ein älterer, rasch wachsender Stamm (Bact. typhi z) verwendet. Die Aussaaten erfolgten auf Kaninchenblut in folgenden Quantitäten:

Zeit		5 Tropfen: 2 ccm actives Blut		10 Tropfen: 2 ccm actives Blut		1 Tropfen: 2 ccm inactivirtes Blut		3 Tropfen: 2 ccm inactivirtes Blut		1 Tropfen: 10 ccm Bouillon	
		avirulent	virulent	avirulent	virulent	avirulent	virulent	avirulent	virulent	avirulent	virulent
Gelatineplatten nach:	sofort	420	900	1 660	2 110	260	130	640	700	30	26
	$1^1/_2{}^h$	—	—	—	—	260	130	420	570	46	48
	3^h	260	4 040	830	4 170	670	2 670	1 280	49 280	130	770
	4^h	—	—	—	—	1 430	13 820	29 570	138 840	190	1 400
	5^h	640	88 720	1 280	142 910	4 120	148 700	34 500	136 480	450	27 480
	24^h	739 200	837 760	788 480	887 040	im mikroskopischen Präparat mässig zahlreiche Bacterien pro Gesichtsfeld.		im mikroskopischen Präparat sehr zahlreiche Bacterien pro Gesichtsfeld.		im mikroskopischen Präparat massenhaft Bacterien im Gesichtsfeld, Bouillon diffus getrübt.	

Digitized by Google

Von den in Bouillon herangezüchteten Culturen wurden sofort nach Beendigung des Versuchs Nr. 6 Agarröhren geimpft, und nach 24stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° C. von beiden Culturen in der oben geschilderten Weise $^1/_4$ Oese je einem Meerschweinchen von ca. 200 g intraperitoneal injicirt. Der Erfolg zeigte, dass auch die sogenannte avirulente Cultur in dieser Dosis nach 48 Stunden tödtlich wirkte, während das mit der virulenten Cultur behandelte Versuchsthier natürlich schon vor Ablauf von 24 Stunden todt war. Die Differenz in der Virulenz beider Culturen war also nicht gross und demgemäss führte auch der bactericide Versuch Nr. 6 mit activem Meerschweinchenblut zu keinem nennenswerthen Resultat.

Aus diesem Grunde wurde beim Versuch Nr. 7 wieder ein sicher avirulenter Stamm von Bacterium typhi (*z*) zum Vergleich mit dem virulenten Typhus (*C*) herangezogen. Der bactericide Versuch fiel entsprechend den früheren aus, d. h. die Vermehrung war bei den avirulenten Aussaaten erheblich verzögert. Auf den zu Tage tretenden Unterschied in der Wirksamkeit zwischen Kaninchen- und Meerschweinchenblut werde ich noch zurückkommen. Gleichzeitig aber liess sich bei dem letzten Versuch wieder eine erhebliche Differenz in der Vermehrungsgeschwindigkeit zwischen beiden Typhusstämmen beobachten, obwohl der avirulente Stamm gerade wegen seines reichlichen Wachsthums zum Vergleich gewählt war.

Es dürfte daher angebracht sein, im folgenden noch zwei Versuche zu beschreiben, welche das Wachsthum verschieden virulenter Stämme in guten Nährmedien zum Gegenstand haben. Verglichen wurden zunächst die im Versuch 4 und 5 verwendeten Typhusstämme *x* und *y*, ferner die beiden Cholerastämme der ersten drei Versuche. Natürlich waren die virulenten, wie bei allen anderen Versuchen 24 Stunden vor dem Versuch, auf die oben angegebene Weise hochvirulent gemacht worden. Ebenso dienten wie bei allen vorhergehenden Versuchen immer frische 24stündige Culturen zum Vergleich.

Nr. 8. Vermehrungsversuch mit Typhusbacterien verschiedener Virulenz.

Von zwei 24stündigen Bouillonculturen wurden je 3 Oesen auf je 50 ccm steriler Bouillon ausgesät, dann die Vermehrung der ausgesäten Keime dadurch controlirt, dass halbstündlich 1 ccm von beiden Bouillonculturen entnommen wurde, um Gelatineplatten zu giessen. Die Bacterien wurden also zur Beobachtung ihres Wachsthums zunächst im gleichen Nährmedium (Bouillon) gelassen.

Colonienzahl der halbstündlich gegossenen Platten:

Avirulente Cultur		Virulente Cultur	
sofort	24 000	sofort	34 500
nach $^1/_2$h	49 000	nach $^1/_2$h	24 500
etc.	49 000	etc.	44 000
	70 000		79 000
	113 000		102 000
	187 000		208 000
	236 000		327 000
	478 000		572 000
nach 4h	936 000	nach 4h	1 222 000.

Nr. 9. Vermehrungsversuch mit Choleravibrionen verschiedener Virulenz.

Von zwei Agarculturen wurde je eine Oese auf 500 ccm Bouillon vertheilt und von dieser Aufschwemmung verschiedene Quantitäten auf je 2 ccm inactivirtem Meerschweinchenblute ausgesät. Das Wachsthum der Keime wurde zunächst durch halbstündliche, später stündliche Entnahme von je einer Oese an Gelatineplatten controlirt.

Aussaatmengen:

Zeit	je 1 Tropfen: 2 ccm inactivirtes Blut		je 3 Tropfen: 2 ccm inactivirtes Blut	
	avirulente	virulente	avirulente	virulente
	Culturen			
Sofort	570	320	830	420
Nach $^1/_2$h	170	130	640	900
» 1h	190	160	880	450
» 2h	320	260	1 120	830
» 4h	1 120	24 640	13 880	63 160

Colonienzahlen der Gelatineplatten.

Vergleicht man die Ergebnisse der Versuche Nr. 8 und 9 mit denen, welche die Controlen zu den bactericiden Versuchen liefern, so geht daraus hervor, dass mit erhöhter Virulenz im allgemeinen bei den untersuchten Bacterienstämmen auch eine leichte Steigerung der Vermehrungsintensität Hand in Hand

Digitized by Google

geht. Dieselbe tritt am wenigsten hervor, wenn man die beiden Typhusstämme der Versuche Nr. 4 und 8 vergleicht. Der Unterschied in der Vermehrungsintensität zwischen virulenten und nicht virulenten Stämmen wird noch grösser, wenn dieselben auf ein von dem gewöhnlichen Züchtungsnährboden differentes Nährmedium übertragen werden, also z. B. von Agar auf Bouillon oder auf inactivirtes Blut. Bei solchen Uebertragungen bemerkt man stets in der ersten Zeit nach der Aussaat eine Abnahme oder wenigstens keine Vermehrung der Keime. Nach 1 oder 2, höchstens 3 Stunden wird dann die sofort nach der Aussaat beobachtete Anzahl wieder erreicht, wozu indess zu bemerken ist, dass diese letztere wohl schon nicht mehr der wirklichen Aussaatzahl entspricht, da die Alteration der Bacterien offenbar sehr rasch eintritt, wie dies schon oben bei der Vergleichung der Aussaatzahlen erwähnt wurde. Diese Erscheinung ist bei avirulenten Stämmen särker ausgeprägt als bei virulenten.

Die Choleravibrionen zeigen übrigens eine grössere Empfindlichkeit beim Uebertragen auf neue Nährmedien als andere Arten, eine Thatsache, die schon von M. Hahn constatirt und durch diese Versuche bestätigt wird.

Bezüglich der Culturen von Bacterium typhi wäre noch zu erwähnen, dass es nicht gelungen ist, unter sieben avirulenten Stämmen einen solchen zu finden, welcher den virulenten an Vermehrungsintensität überlegen war.

Fasst man die Resultate, welche sich aus obigen Versuchen ergeben, nochmals zusammen, so dürfte man folgenden Sätzen zustimmen:

1. Hochvirulente Stämme von Bacterium typhi und Vibrio cholerae verhalten sich activem Meerschweinchen- und Kaninchenblut gegenüber resistenter als avirulente Stämme derselben Species.
2. Die Vermehrungsintensität der Culturen ist bei diesem Verhalten zu berücksichtigen, insofern als sie einen, wenn auch im Verhältnis zur bactericiden Wirkung des activen Blutes sehr geringen Einfluss auf die Versuchsresultate ausübt.

3. Das Uebertragen der obigen Mikroorganismen auf ein differentes Nährmedium verursacht eine vorübergehende Alteration derselben, die aber in ihrem zahlenmässigen und in ihrem zeitlichen Ausdruck der durch actives Blut bewirkten Schädigung ganz bedeutend nachsteht. Choleravibrionen zeigen hiebei besondere Empfindlichkeit.
4. In den vorliegenden Versuchen wirkte actives Meerschweinchenblut stärker bactericid auf Typhusbacillen und Choleravibrionen als actives Kaninchenblut. Da aber die Zahl der Versuche zu klein ist, so dürfte hieraus ein allgemeiner Schluss noch nicht gezogen werden.
5. An der Farbe des activen Blutes lässt sich schon nach einigen Stunden makroskopisch erkennen, ob darin enthaltene Mikroorganismen sich vermehren, oder ob sie der bactericiden Wirkung des Blutes erliegen.

Digitized by Google

Ueber Extraction von Alexinen aus Kaninchenleukocyten mit dem Blutserum anderer Thiere.

Von

Dr. **P. Laschtschenko,**
Privatdocent an der Universität Charkow.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität München.)

Die Frage, ob die Alexine des Blutes wirklich ein Product der vitalen Secretionsthätigkeit der Leukocyten vorstellen, erscheint in hohem Grade wichtig und interessant. Schon vor längerer Zeit wurde von Seiten Hankins[1]), Havet und Denys[2]) die Vermuthung ausgesprochen, dass die Alexine ihren Ursprung den Leukocyten verdanken, die ersten Versuche jedoch, welche diesem Zusammenhange eine feste Basis gegeben haben, wurden von Buchner und seinen Schülern angestellt, vor allem von Hahn und Schattenfroh.

Buchner[3]) hat bewiesen, dass ein leukocytenreiches Exsudat eben auf Grund seines Gehalts an Leukocyten stärker bactericid wirkt als Blut und Serum desselben Thieres, von welchem das Exsudat entnommen wurde. Nach einigen Versuchen, welche die früheren Resultate Buchner's bestätigt haben, arbeitete Hahn[4]) mit isolirten Leukocyten, welche er erhielt, indem er in die Bauchhöhle von Kaninchen Schwämme einführte, welche

1) Centralblatt für Bacteriologie, Bd. XII, 1892.
2) La Cellule, T. IX—XI.
3) Münchener medic. Wochenschrift, 1894.
4) Archiv für Hygiene, Bd. XXV u. XXVIII.

mit chemotaktisch wirkenden Stoffen durchtränkt waren. Weiter stellte er Versuche mit Histonblut an und bewies schliesslich, dass das Blut von Hunden und Menschen im Zustande der Hyperleukocytose stärker bactericid wirkt als in normalem Zustande. Hahn kommt zu dem Schlusse, dass in seinen Versuchen aller Wahrscheinlichkeit nach eine vitale Ausscheidung von Alexinen durch Leukocyten stattgefunden habe. Schattenfroh[1]) kam mit seiner sehr umfangreichen Arbeit nicht zu wesentlich neuen Schlüssen, wenngleich seine Versuche, besonders mit isolirten Leukocyten, als sehr interessant zu bezeichnen sind; sie dienen jedenfalls durch ihre mannigfache Variation zur Bestätigung bereits festgestellter Facta.

Um die Alexine aus Leukocyten zu extrahiren, haben die verschiedenen Autoren sehr verschiedene Methoden gewählt. Buchner brachte ein leukocytenreiches Exsudat zu wiederholten Malen zum Gefrieren und liess es wieder aufthauen. Dieser Methode, bei welcher die Phagocytose ausgeschlossen ist, folgten mehrere andere Forscher, wie A. Kolbe und K. Schuster[2]), Hahn, Schattenfroh u. A. Schattenfroh unterwarf bei seinen Versuchen mit isolirten Leukocyten dieselben auch dem Austrocknen und Verreiben, und macerirte sie in Kochsalzlösung, um das Extract zu erhalten. Van de Velde[3]) behandelte die Leukocyten mit Leukocidin, welches denselben die bactericiden Substanzen entzog. Ebenso verfuhr auch Bail[4]). In einer folgenden Arbeit schlug van de Velde[5]) vor, statt Leukocidin, zum selben Zwecke destillirtes Wasser oder Hundeserum zu verwenden. Letzteres wirkt, wie bekannt, gleich dem destillirten Wasser auf Kaninchenerythrocyten stark globulicid; in analoger Weise ist es nach van de Velde im Stande, die Leukocyten zu zerstören und ihnen hiebei bacterienfeindliche Substanzen zu entziehen. Seine Schlüsse zieht van de Velde

1) Archiv für Hygiene, Bd. XXII.
2) Inaugural-Dissertation, München 1894.
3) Le Cellule, T. X.
4) Archiv für Hygiene, Bd. XXX.
5) Centralblatt f. Bacteriologie, Bd. XXII, Nr. 16, 1898, I. Abth., S. 692.

aus drei Versuchen. In der That beweisen diese Versuche, dass das inactive Kaninchenserum, wenn man ihm eine gewisse Quantität, durch destillirtes Wasser oder Hundeserum getödtete Leukocyten enthaltende Flüssigkeit hinzufügt, stark bactericid wirkt (Staphylococcenversuche).

In all den Arbeiten, welche ich in Kürze berührt habe, wurden die Leukocyten zerstört, und es konnte immer der Einwand erhoben werden, die Ausscheidung von Alexinen durch Leukocyten sei eine postmortale, artificielle Erscheinung, welche nicht intra vitam stattfinde. Daher bestand das Bedürfnis, ein weniger eingreifendes Verfahren zu finden, um Alexine aus Leukocyten zu extrahiren. Van de Velde that allerdings in bezeichneter Richtung einen Schritt und schlug zur Extraction von Alexinen das Hundeserum vor, jedoch brachte er keinen Beweis dafür, dass die aus den Leukocyten extrahirten bactericiden Substanzen wirklich Alexine sind, und dass deren Ausscheidung aus den Leukocyten eine vitale Erscheinung ist.

Angeregt durch die letzten Untersuchungen van de Velde's habe ich es auf Vorschlag des Herrn Prof. Buchner unternommen, in der bezeichneten Richtung weiter zu arbeiten.

In Vorversuchen, welche ich ganz und gar nach der Vorschrift von van de Velde anstellte, konnte ich seine Beobachtungen, dass nämlich ein Kaninchenleukocyten enthaltendes Hundeserum stärker bactericid wirkt als das reine Hundeserum, bestätigen. Für meine späteren Untersuchungen wählte ich folgende Versuchsanordnung:

Zur Erzeugung eines leukocytenreichen Exsudates bediente ich mich des Aleuronatbreies. Kaninchen und Hunden wurde der Aleuronatbrei in die rechte Brusthöhle, Meerschweinchen in die Bauchhöhle injicirt. Das Exsudat wurde nach 24 bis 30 Stunden entnommen, nachdem zunächst das Blut des Thieres aus der Carotis entzogen war. Das Exsudat wurde centrifugirt. Die obere Schicht wurde abgegossen, der aus Leukocyten bestehende Bodensatz aber mit inactivem Kaninchenserum durchgewaschen, wobei jedesmal die Leukocyten wieder abcentrifugirt wurden. Schliesslich wurde der Bodensatz, welcher keine Spur

der serösen Exsudatflüssigkeit mehr enthielt, meist ca. 2 Stunden im Thermostat bei einer Temperatur von 37° der Einwirkung verschiedener Thiersera unterworfen. Die nach abermaliger Centrifugirung erhaltene, von Leukocyten freie Flüssigkeit, das sogenannte »Extract«, wurde nun auf seine bactericide Kraft hin geprüft und letztere mit derjenigen des betreffenden Thierserums, welches zur Herstellung des betreffenden »Extractes« gedient hatte, verglichen.

Versuch I.

Isolirte und mit inactivem Kaninchenserum gewaschene Kaninchenleukocyten wurden in ein Röhrchen gebracht, welches 3 ccm frisches Hundeserum enthielt, und 2 Stunden im Thermostat (37°) digerirt. Nach 2 Stunden wurden die Leukocyten abcentrifugirt und 2 ccm durchsichtigen »Extractes« für den Versuch entnommen. Staphylococcus pyog. aur.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
2 ccm Hundeserum	2 957	2 732	7 393	sehr viele
	8 752	10 837	sehr viele	∞
2 ccm »Extract«	7 335	152	51	29
	173 000	378	330	52

Versuch II.

Dieselbe Versuchsanordnung. Kaninchenleukocyten. Zur Herstellung des »Extractes« diente Hundeserum, welches 4 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt worden war. Staphylococcus pyog. aur.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
2 ccm Hundeserum	2 205	13 700	∞	∞
2 ccm »Extract«	2 142	72	170	123
	2 898	84	378	215
2 ccm Extract inactiv, $^1/_2$ Std. bei 55—59°	1 953	207	2 600	245 000
	4 410	640	5 200	∞

Versuch III.

Kaninchenleukocyten. Hundeserum. Das »Extract« wurde zur Hälfte mit inactivem Kaninchenserum verdünnt. Dieselbe Versuchsanordnung. Staphylococcus pyog. aur.

Digitized by Google

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:				
	gleich nach Aussaat	nach			
		2 Std.	5 Std.	24 Std.	35 Std.
1. 1 ccm inact. Kaninchenserum u. 1 ccm Hundeserum . . .	980	504	252	3 780	∞
2. Wie 1	2 400	895	2 772	97 000	∞
3. 1 ccm »Extract« u. 1 ccm inactives Kaninchenserum . .	3 024	1 260	970	842	102
4. Wie 3	4 951	3 969	2 750	1 024	572

Versuch IV.

Kaninchenleukocyten. Zur Herstellung des »Extractes« diente Hundeserum, welches 18 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt wurde. Sowohl der »Extract« wie auch das Hundeserum wurden mit inactivem Kaninchenserum vierfach verdünnt. Frisch aus Excrementen gezüchteter Colibacillus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	gleich nach Aussaat	nach	
		2 Std.	5 Std.
1. Hundeserum 0,5 ccm u. inact. Kaninchenserum 1,5 ccm . .	2 800	2 500	12 000
2. Extract 0,5 ccm u. inactives Kaninchenserum 1,5 ccm . .	3 700	3 000	5 000
3. Wie 2	8 400	8 000	9 000
4. Dasselbe inactiv	5 700	4 000	65 000

Versuch V.

Kaninchenleukocyten. Zur Extraction diente Hundeserum, welches 25 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt wurde. Extract und Hundeserum wurden mit steriler physiologischer Kochsalzlösung fünffach verdünnt. Alte Cultur von Coli communis, welche lange Zeit im Laboratorium fortgezüchtet war.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	5 Std.	24 Std.
1. 0,4 ccm Hundeserum u. 1,6 ccm physiolog. Cl Na-Lösung . .	1 350	2 720	57 000	∞
2. Wie 1	945	2 205	120 000	∞
3. 0,4 ccm Extract u. 1,6 ccm physiolog. Cl Na-Lösung . .	1 080	125	227	12 000
4. Wie 3	2 940	350	200	17 000
5. Dasselbe inactiv	1 200	5 720	200 000	∞

Digitized by Google

Versuch VI.

Kaninchenleukocyten. Zur Extraction diente Hundeserum. Extract und Hundeserum wurden vierfach verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung. Bac. Typhi.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	5 Std.	24 Std.
1. 0,5 ccm Hundeserum u. 1,5 ccm physiolog. Cl Na-Lösung . .	50 000	230	80	12 000
2. 0,5 ccm »Extract« u. 1,5 ccm physiolog. Cl Na-Lösung . .	24 000	82	6	0
3. Wie 2	85 000	260	4	0
4. Dasselbe inactiv, $^1/_2$ Std. bei 55—59°	32 000	38 000	44 000	170 000
5. Wie 4	72 000	74 000	80 000	300 000

Aus den angeführten Versuchen ist klar ersichtlich, dass das Leukocytenextract, welches mittels Hundeserum hergestellt wurde, in viel grösserem Maasse bactericide Eigenschaften besitzt als dieses letztere. Besonders deutlich sind die Resultate in den Versuchen mit dem Staphylococcus (I bis III), welchem gegenüber Hundeserum an und für sich keine besonders starken bactericiden Eigenschaften aufweist. Was die beiden Versuche mit Coli communis betrifft, so ist in dem einen von ihnen auch eine stärkere bactericide Kraft des »Extractes« bemerkbar. Die schwächere Bactericidie des »Extraktes« im IV. Versuche erklärt sich damit, dass der Versuch mit frisch gezüchtetem Coli communis angestellt wurde, welcher bekanntlich[1]) weniger auf Alexin aus Kaninchenblut reagirt. Dem Typhusbacillus gegenüber besitzt das Hundeserum sehr starke bactericide Eigenschaften, aber dennoch ist es augenscheinlich, dass das Extract auf diesen Bacillus noch stärker vernichtend wirkt.

Es erhebt sich die Frage, wodurch erhält das Extract das grössere bactericide Vermögen im Vergleich zu dem Serum, welches zu seiner Herstellung diente? Die Versuche mit inactivirtem, d. h. auf 55° erwärmtem Extract zeigen, dass die Bactericidie auf der Gegenwart von labilen Körpern beruht. Die

1) Laschtschenko, Hygienische Rundschau, 1899, Nr. 3.

Labilität ist aber bekanntlich charakteristisch für die Alexine. Da diese Frage jedoch überaus wichtig ist, so untersuchte ich, um eine Entscheidung herbeizuführen, ob das Extract auch im übrigen sich verhält wie ein bactericides Serum. Bei den umfangreichen Untersuchungen, welche Buchner[1]) der Erforschung der Eigenschaften der Alexine gewidmet hat, fand er unter anderem, dass die Verdünnung des activen Serums mit destillirtem Wasser zu einer Schwächung der Bactericidie desselben führt, während die Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung dasselbe verhältnismässig nicht beeinflusst.

Versuch VII.

Kaninchenleukocyten. Zur Herstellung des ›Extractes‹ diente Hundeserum. Das Extract und das Hundeserum wurden zehnfach mit destillirtem Wasser und physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Bac. Typhi.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	gleich nach Aussaat	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Hundeserum 0,1 ccm u. phys. Cl Na-Lösung 1,9 ccm . . .	80 000	350	12
2. Extract 0,1 ccm u. physiolog. Cl Na-Lösung 1,9 ccm . . .	82 000	20	0
3. Hundeserum 0,1 ccm u. destill. Wasser 1,9 ccm	60 000	2 642	720
4. Extract 0,1 ccm u. destill. Wasser 1,9 ccm	75 000	1 427	25
5. Dasselbe inactiv bei 55—59° $^1/_2$ Std.	82 000	44 500	∞

Versuch VIII.

Kaninchenleukocyten. Dieselbe Versuchsanordnung. Bac. Typhi.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Hundeserum 0,1 ccm u. phys. Cl Na-Lösung 1,9 ccm . . .	1 540	1	0	0
2. Wie 1	70 000	3 000	720	0
3. Hundeserum 0,1 ccm u. destill. Wasser 1,9 ccm	1 420	650	540	120 000

1) Buchner, Archiv für Hygiene, XVII.

Digitized by Google

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	5 Std.	24 Std.
4. Wie 3	37 000	20 000	82 000	∞
5. Extract 0,1 ccm u. physiolog. Cl Na-Lösung 1,9 ccm . . .	2 450	0	0	0
6. Wie 5	65 000	0	0	0
7. Extract 0,1 ccm u. destill. Wasser 1,9 ccm	1 490	275	72	54
8. Wie 7	30 000	10 000	6 520	117 000

Versuch IX.

Kaninchenleukocyten. Zur Herstellung des Extractes diente Hundeserum, welches durch 10 Minuten langes Erwärmen auf 60° inactivirt wurde. Bac. pyocyaneus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	gleich nach Aussaat	nach	
		5 Std.	24 Std.
Inact. Hundeserum 0,1 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,9 ccm	1 693	2 700	340 000
Inact. Hundeserum 0,1 ccm u. destill. Wasser 1,9 ccm . .	1 441	7 652	∞
Extract 0,1 ccm u. physiolog. Cl Na-Lösung 1,9 ccm . . .	1 520	742	17 000
Extract 0,1 ccm u. destill. Wasser 1,9 ccm	1 540	9 350	290 000

Aus den angeführten Versuchen ist klar ersichtlich, dass bei Verdünnung des »Extractes« mit Kochsalzlösung keine Schwächung der bactericiden Eigenschaften desselben stattfindet, wohingegen in den Fällen, wo die Verdünnung durch destillirtes Wasser geschah, dieselben stark herabgesetzt wurden. In Anbetracht dieses Umstandes und dessen, dass oben der labile Zustand der bactericiden Körper des Extractes bewiesen wurde, muss man die bactericide Wirkung des Extractes als auf Alexinen beruhend betrachten.

Es entsteht nun die Frage, wie soll man sich den Mechanismus der Extraction von Alexinen aus Kaninchenleukocyten mittels Hundeserum erklären? Wie bekannt, besitzt das Hundeserum starke globulicide Eigenschaften gegenüber den rothen

Digitized by Google

Blutkörperchen des Kaninchenblutes. Hervorzuheben ist der Umstand, dass es die rothen Körperchen zerstört, aus ihnen den Farbstoff extrahirt, das Stroma derselben jedoch unberührt lässt. (Landois.[1]) Auch auf Leukocyten wirkt das active Hundeserum zerstörend (Buchner[2]). Es wäre sehr leicht die Voraussetzung zu machen, das Hundeserum zerstöre die Leukocyten und extrahire aus ihnen Alexine, gleich wie es aus rothen Blutkörperchen das Hämoglobin extrahirt. Jedoch, wie aus den folgenden Versuchen ersichtlich ist, steht die Extractionseinwirkung des Hundeserums in keinem causalen Zusammenhang zu den Alexinen desselben und ebensowenig zu seiner globuliciden Fähigkeit.

Versuch X.

Kaninchenleukocyten. Zur Extraction diente Hundeserum, welches 10 Minuten auf 60° erwärmt war. Bac. Typhi.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	5 Std.	24 Std.
Hundeserum inactiv 0,5 ccm u. Inact. Kaninchenserum 1,5 ccm	51 000	47 000	50 000	125 000
	42 000	39 000	18 000	140 000
Extract 0,5 ccm u. Inact. Kaninchenserum 1,5 ccm	34 000	115	1	0
	135 000	504	6	0
Dasselbe inactiv	37 000	30 000	35 000	60 000
	72 000	50 000	170 000	400 000

Versuch XI.

Dieselbe Versuchsanordnung. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	gleich nach Aussaat	nach	
		2 Std.	6 Std.
0,5 ccm inact. Hundeserum u. 1,5 ccm inact. Kaninchenserum	5 000	4 700	125 000
0,5 ccm Extract	2 700	2 000	7 000
1,5 ccm inact. Kaninchenserum	6 000	5 000	12 000
Dasselbe ½ Stunde bei 55—59° inactivirt	3 700	3 200	69 000

1) Landois, Die Transfusion des Blutes. Leipzig 1876.
2) Archiv für Hygiene, Bd. XVII

Versuch XII.

Kaninchenleukocyten. Zur Extraction dient Hundeserum, welches eine $^1/_2$ Stunde lang auf 60° erhitzt wurde. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	gleich nach Aussaat	nach 5 Std.	nach 24 Std.
0,5 ccm inact. Hundeserum u. 1,5 ccm inact. Kaninchenserum	375 400	595 475	29 750 32 000
0,5 ccm Extract u. 1,5 ccm inact. Kaninchenserum	420 475	22 73	0 0
Dasselbe bei 55—59° $^1/_2$ Std. inact	370	75	700 000

Die angeführten Versuche dienen unzweifelhaft zur Bestätigung dessen, dass auch inactives Hundeserum, trotzdem es keine globuliciden Eigenschaften mehr besitzt, doch im Stande ist, aus Leukocyten Alexine zu extrahiren. Auch das Erhitzen desselben, sogar $^1/_2$ Stunde lang auf 60°, entzieht ihm nicht diese Fähigkeit. Auf Grund von Versuchen, welche ich hier nicht anführe, habe ich mich überzeugen können, dass nur beim halbstündigen Erhitzen von Hundeserum auf 70°, wenn es schon in seinen chemischen Bestandtheilen verändert wird, milchgraue Farbe annimmt und undurchsichtig wird, dasselbe seiner Fähigkeit verlustig geht, aus Leukocyten Alexine zu extrahiren. Die Versuche mit dem Extract, welches mittels inactivem Hundeserum erhalten war, waren sogar noch demonstrativer, da ja natürlicher Weise das inactive Serum an und für sich überhaupt gar keine bactericiden Eigenschaften besitzt. Jedenfalls ist die Fähigkeit des inactiven Hundeserums, aus Leukocyten Alexine zu extrahiren, eine Thatsache von grösster Wichtigkeit; dass dieses Serum auch nicht mehr zerstörend auf die rothen Blutkörperchen und Leukocyten des Kaninchens wirkt, darf als bekannt vorausgesetzt werden. Besitzen nun die Sera anderer Thiere ähnliche extractive Fähigkeiten wie das Hundeserum? Eine Reihe unten angeführter Versuche bestätigen diese Vermuthung. Ich erhielt die Sera von Rindern, Kälbern, Schweinen, Pferden, Schafen, Ziegen, Lämmern möglichst aseptisch aus dem hiesigen Schlachthofe, Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Oberthierarztes Mölter. Zur Herstellung des Leukocytenextractes

Google

verfuhr ich genau ebenso, wie in meinen Versuchen mit Hundeserum.

Versuch XIII.

Kaninchenleukocyten. Rinderserum. Sowohl Serum wie Extract wurden vierfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Rinderserum 0,5 ccm u. phys. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	655	1 149	12 000	∞
2. Wie 1	2 892	3 651	27 000	∞
3. Extract 0,5 ccm u. physiolog. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	475	0	0	0
4. Wie 3	2 972	3	0	0
5. Dasselbe inact. ½ Std. bei 55°	2 172	3 750	1 927	45

Versuch XIV.

Kaninchenleukocyten. Rinderserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Rinderserum 0,5 ccm u. phys. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	142	8	24	0
2. Wie 1	349	15	10	7 000
3. Extract 0,5 ccm u. physiolog. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	195	0	0	0
4. Wie 3	355	0	0	0
5. Dasselbe inactiv ½ Std. bei 55—59°	410	17	65	40 000

Versuch XV.

Kaninchenleukocyten. Kalbsserum. Extract und Serum wurden vierfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Kalbsserum 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	615	1 142	15 000	∞
2. Wie 1	2 400	3 000	35 000	∞
3. Extract 0,5 ccm u. physiolog. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	690	4	4	12
4. Wie 3	2 190	28	3	15
5. Dasselbe inactiv	2 150	2 100	1 000	∞

Digitized by Google

Versuch XVI.

Kaninchenleukocyten. Kalbsserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten: gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Kalbsserum 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	110	7	3	392
2. Wie 1	2 297	20	7	6 325
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	197	0	0	0
4. Wie 3	2 347	6	0	0
5. Dasselbe inactiv	200	625	2 457	∞

Versuch XVII.

Kaninchenleukocyten. Schweinsserum. Extract und Serum vierfach mit Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten: gleich nach Aussaat	nach 4 Std.	nach 8 Std.	nach 30 Std.
1. Schweinsserum 0,5 ccm und physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm	1 727	3 250	170 000	∞
2. Wie 1	5 370	8 390	290 000	∞
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	3 425	730	12	140 000
4. Wie 3	6 110	1 240	42	300 000
5. Dasselbe inactiv	5 327	892	12 700	500 000

Versuch XVIII.

Kaninchenleukocyten. Schafserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten: gleich nach Aussaat	nach 4 Std.	nach 8 Std.	nach 30 Std.
1. Schweinsserum 0,5 ccm und physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm	352	275	100	∞
2. Wie 1	7 557	1 937	12 000	∞
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	2 975	82	7	∞
4. Wie 3	8 420	100	20	∞
5. Dasselbe inactiv	5 000	12 000	200 000	∞

by Google

Versuch XIX.

Kaninchenleukocyten. Pferdeserum. Extract und Serum vierfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		4 Std.	8 Std.	24 Std.
1. Pferdeserum 0,5 ccm u. phys. NaCl-Lösung 1,5 ccm . . .	672	650	1 323	∞
2. Wie 1	1 897	1 370	1 250	∞
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. NaCl-Lösung 1,5 ccm . . .	782	20	0	0
4. Wie 3	1 942	57	1	0
5. Dasselbe inactiv	1 955	1 449	620	∞

Versuch XX.

Kaninchenleukocyten. Pferdeserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		4 Std.	8 Std.	24 Std.
1. Pferdeserum 0,5 ccm u. phys. ClNa-Lösung 1,5 ccm . . .	100	3	4	123
2. Wie 1	750	110	372	40 000
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. ClNa-Lösung 1,5 ccm . . .	142	1	0	0
4. Wie 3	840	7	0	0
5. Dasselbe inactiv	400	600	12 000	∞

Versuch XXI.

Kaninchenleukocyten. Schafserum. Extract und Serum vierfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	5 Std.	24 Std.
1. Schafserum 0,5 ccm u. physiol. ClNa-Lösung 1,5 ccm . . .	1 257	832	3 427	∞
2. Wie 1	4 025	3 700	6 900	∞
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. ClNa-Lösung 1,5 ccm . . .	1 175	450	1	0
4. Wie 3	6 372	740	5	0
5. Dasselbe inactiv	3 275	3 340	15 000	∞

Versuch XXII.

Kaninchenleukocyten. Schafserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	5 Std.	24 Std.
1. Schafserum 0,5 ccm u. phys. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	882	504	20	12 000
2. Wie 1	3 780	2 583	525	75 000
3. Extract 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm . . .	1 840	1	0	0
4. Wie 3	6 950	12	3	0
5. Dasselbe inactiv	4 275	4 000	8 000	∞

Versuch XXIII.

Kaninchenleukocyten. Ziegenserum. Extract und Serum vierfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	7 Std.	24 Std.
1. Ziegenserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	2 750	1 900	735	20 000
2. Wie 1	4 572	3 720	13 000	300 000
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	2 600	5	0	0
4. Wie 3	5 727	17	2	0
5. Dasselbe inactiv	4 297	240	172	7 327

Versuch XXIV.

Kaninchenleukocyten. Ziegenserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach		
		2 Std.	7 Std.	24 Std.
1. Ziegenserum 1,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	3 200	180	140	4 372
2. Wie 1	5 275	1 150	342	12 000
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	3 420	12	0	0
4. Wie 3	4 717	131	0	0

Digitized by Google

Versuch XXV.

Kaninchenleukocyten. Lammserum. Extract und Serum vierfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
1. Lammserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. ClNa-Lösung . . .	1 723	2 420	3 750	∞
2. Wie 1	2 490	2 800	5 600	∞
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. ClNa-Lösung . . .	2 400	150	0	0
4. Wie 3	4 720	3 000	125	0

Versuch XXVI.

Kaninchenleukocyten. Lammserum. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
1. Lammserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. ClNa-Lösung . . .	1 725	1 200	75	20 000
2. Wie 1	4 200	3 700	420	600 000
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. ClNa-Lösung . . .	2 750	327	0	0
4. Wie 3	5 600	2 700	325	0
5. Dasselbe inactiv	3 700	5 000	20 000	∞

Die angeführten Versuche beweisen unzweifelhaft, dass nicht nur Hundeserum, sondern auch dasjenige anderer Thiere die Fähigkeit besitzt, aus Leukocyten Alexine zu extrahiren. Schon allein aus dem Umstande, dass das Pferdeserum, welches im activen Zustande beinahe gar keine globuliciden Eigenschaften besitzt, ebenso energisch aus Leukocyten Alexine extrahirt, wie z. B. Rindsserum, welches globulicide Eigenschaften besitzt, könnte man die Schlussfolgerung machen, dass Alexine und die globulicide Eigenschaft der Sera verschiedener Thiere auch hier gar keine Rolle spielen bei der Extraction von Alexinen aus Leukocyten. Aber es wurden auch eine Reihe von Versuchen über die Extraction von Alexinen aus Leukocyten mit erhitztem Pferde-, Lamm- und Schweinsserum ausgeführt.

Digitized by Google

Versuch XXVII.

Kaninchenleukocyten. Pferdeserum, inactivirt durch Erhitzen während 1/2 Stunde auf 55°. Extract und Serum vierfach verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung. Staphylococcus

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 4 Std.	nach 8 Std.	nach 30 Std.
1. Inactiv. Pferdeserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm phys. Cl Na-Lösung	2 429	3 427	21 000	∞
2. Wie 1	5 037	9 718	25 000	∞
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm phys. Cl Na-Lösung	2 900	725	40	15
4. Wie 3	5 842	1 300	75	30
5. Dasselbe inactiv	4 700	82 000	40 000	∞

Versuch XXVIII.

Kaninchenleukocyten. Pferdeserum, inactivirt durch Erhitzen während 10 Minuten auf 60°. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Inactiv. Pferdeserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm phys. Cl Na-Lösung	504	720	45 000	∞
2. Wie 1	3 400	5 600	∞	∞
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	1 282	350	4	42
4. Wie 3	4 700	725	137	27
5. Dasselbe inactiv	3 275	3 000	27 000	∞

Versuch XXIX.

Kaninchenleukocyten. Schweinsserum. Um letzteres in den inactiven Zustand zu versetzen, wurde dasselbe im Verlauf einer Woche der Einwirkung des auffallenden Tageslichtes ausgesetzt. Serum und Extract vierfach verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1 Inact. Schweinsserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm phys. Cl Na-Lösung	1 625	1 240	5 425	∞
2. Wie 1	2 472	3 700	10 000	∞
3. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	1 420	730	115	342
4. Wie 3	2 750	1 400	27	40
5. Dasselbe inactiv	3 652	1 700	240	74 000

Google

Versuch XXX.

Kaninchenleukocyten. Schweinsserum, inactivirt durch Belichtung. Coli communis.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich nach Aussaat	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 24 Std.
1. Inact. Schweinsserum 0,5 ccm u. 1,5 ccm phys. Cl Na-Lösung	1 700	1 800	5 400	∞
2. Extract 0,5 ccm u. 1,5 ccm physiol. Cl Na-Lösung . . .	3 200	110	27	300
3. Dasselbe inactiv	2 700	1 600	4 250	100 000

In allen bisher angeführten Versuchen wirkte das Serum der verschiedenen Thiere auf Leukocyten 2 Stunden lang im Thermostat bei 37° ein. Um den Mechanismus, wie die Alexine erhalten werden, deutlicher klarzulegen, wurde die Zeit der Extraction in den folgenden Versuchen variirt. Es wurde Pferdeserum deshalb gewählt, weil es bekanntlich auch im activen Zustande gar keine globuliciden Eigenschaften gegenüber den rothen Blutkörperchen des Kaninchenblutes besitzt.

Versuch XXXI.

Kaninchenleukocyten. Pferdeserum. Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	gleich n. Aussaat	nach 2 Std.	nach 8 Std.	nach 24 Std.
1. Pferdeserum 0,5 ccm u. physiol. Cl Na-Lösung 1,5 ccm	1 420	1 175	6 242	∞
2. Wie 1	4 250	4 430	3 000	∞
3. Extract, erhalten durch 2stünd. Einwirkung von Serum bei 37°, verdünnt mit physiol. Cl Na-Lösung 1:4—2 ccm . . .	1 475	52	3	470
4. Wie 3	2 950	195	75	397
5. Extract, erhalten durch $1^1/_2$stünd. Einwirkung von Serum bei 37°, verdünnt mit physiol. Cl Na-Lösung 1:4—2 ccm . . .	1 172	42	15	375
6. Wie 5	3 420	100	107	780
7. Extract, erhalten durch 1stünd. Einwirkung von Serum bei 37°, verdünnt mit physiol. Cl Na-Lösung 1:4—2 ccm . . .	1 240	31	0	0
8. Wie 7	3 100	342	4	152

Digitized by Google

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien anf den Platten:			
	gleich n. Aussaat	nach 2 Std.	nach 8 Std.	nach 24 Std.
9. Extract, erhalten durch $^1/_2$ stünd. Einwirkung von Serum bei 37°	1740	20	31	3
10. Wie 9	2927	200	12	2
11. Extract, erhalten durch $^1/_4$ stünd. Einwirkung von Serum	1492	82	70	0
12. Wie 11	4000	202	130	0
13. Extract, erhalten durch 5 Minuten lange Einwirkung von Serum	1527	52	0	0
14. Wie 13	3972	197	7	204

Die Möglichkeit, bei nur 5 Minuten langer Einwirkung von Pferdeserum auf Kaninchenleukocyten ein Extrakt zu erhalten, welches stark bactericide Eigenschaften besitzt, durch welche Millionen von Bacterien im Verlauf einiger Stunden vollkommen zerstört werden, ist eine endgiltige Bestätigung dessen, dass bei der Extraction von Alexinen eine vitale Secretion derselben durch die Leukocyten stattfindet. Gestützt auf den letzten Versuch kann man sagen, dass schon eine Berührung der Kaninchenleukocyten mit dem Serum anderer Thiere genügt, um Alexine aus ihnen zu extrahiren. Es unterliegt keinem Zweifel, dass das Blutserum anderer Thiere gleichsam als biologischer Reiz auf die Kaninchenleukocyten wirkt, welcher sie zwingt, Alexine auszuscheiden, und dass dieser Process nicht post mortem, sondern intra vitam stattfindet.

Eine eklatante Bestätigung hiefür ist noch der Umstand, dass die Sera verschiedener Thiere, mit denen ich gearbeitet habe, als physiologischer Reiz specifisch nur auf Kaninchenleukocyten wirken, während sie auf die Leukocyten des Hundes und Meerschweinchens gar keine Wirkung ausüben. Ich habe 10 Versuche mit der Einwirkung von Kaninchenserum auf Meerschweinchenleukocyten angestellt, habe jedoch entweder unklare oder negative oder auch vollkommen entgegengesetzte Resultate erhalten, d. h. das Extract wirkte noch weniger bactericid als das Serum an und für sich. Ebenso fruchtlos waren die Ver-

Digitized by Google

suche, Alexine aus Meerschweinchenleukocyten mittels Hunde-, Kalbs- und Pferdeserums zu erhalten. Beiläufig will ich hier bemerken, dass es gar nicht leicht ist, vom Meerschweinchen ein gutes Exsudat zu erhalten. Ich war gezwungen, zu einem Versuch drei bis vier grosse Meerschweinchen von ca. 500 g Gewicht zu nehmen. Es wurde ihnen 2 bis 3 ccm Aleuronatbreies in die Bauchhöhle gespritzt, die Thiere wurden durch Eröffnung der Carotiden getödtet, darauf wurden in die Bauchhöhle 5 bis 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung gespritzt und endlich die Bauchhöhle eröffnet und mit einer Pipette 5 bis 8 ccm des hellgelben, oft mit Blut vermischten, wenig Leukocyten enthaltenden Exsudats entnommen. Ferner waren die Resultate negativ bei Einwirkung von Kaninchen-, Ziegen-, Rinds- und Schweinsserum auf Hundeleukocyten. Das erhaltene Extract zeigte keine grösseren bactericiden Eigenschaften als das Serum, welches zur Extraction gedient hatte, obgleich es mir gelang, mit Einspritzung von Aleuronatbrei in die rechte Brusthöhle von Hunden ein prächtiges, sehr leukocytenreiches Exsudat zu erhalten. Der Umstand, dass es uns nicht gelang, mit Serum vom Hund und anderen Thieren aus Meerschweinchenleukocyten Alexine zu extrahiren, hat eine grosse Bedeutung.

Schattenfroh arbeitete mit Meerschweinchenleukocyten, liess sie gefrieren und wieder aufthauen, setzte sie der Erhitzung in physiologischer Kochsalzlösung aus, überhaupt zerstörte sie und erhielt »Extracte«, welche ebenso starke bactericide Eigenschaften besassen wie diejenigen Extracte, welche er aus den Kaninchenleukocyten erhalten hatte. In meinen Versuchen war die Wirkung der verschiedenen Serumarten nur ausgeprägt gegenüber Kaninchenleukocyten, und es ist leicht verständlich, warum meine Versuche, Alexine aus Kaninchenleukocyten mit den Serum desselben Thieres zu extrahiren, misslangen, da ja ein solches Serum im gegebenen Falle natürlich nicht wie ein physiologischer Reiz auf die Leukocyten wirken konnte.

Aber es fragt sich: Besteht nicht der Process der Ausscheidung von Alexinen aus Kaninchenleukocyten etwa darin, dass die Leukocyten, in eine ihnen fremde Umgebung gebracht,

zu Grunde gehen, und dass dann, Dank irgend einer chemischen oder physikalischen Einwirkung, beispielsweise der Osmose, eben die Ausscheidung der Alexine zu Stande kommt? Diese Frage muss schon desswegen verneint werden, weil die Dauer der Einwirkung des Serums auf Kaninchenleukocyten bei Erhaltung eines an bactericiden Eigenschaften reichen Extractes gar keine Rolle spielt. Ich habe noch Versuche angestellt mit der Einwirkung von Kochsalzlösungen verschiedener Concentration, 1%, 5%, 10% auf Leukocyten, doch sind die Resultate immer negativ ausgefallen. Nach zweistündiger Einwirkung von 5 bis 10proc. Kochsalzlösung auf Kaninchenleukocyten werden dieselben vollständig zerstört, man erhält ein sperma-ähnliches Extract, welches beinahe gar keine bactericiden Eigenschaften aufweist.

Wenn alle angeführten Thatsachen zusammengefasst werden, wird man mit Recht behaupten können, dass hier ein sozusagen äusserst »zartes Verfahren« gefunden ist, um Alexine aus lebenden Leukocyten zu extrahiren. Ob nun damit ein neuer Baustein gegeben ist zu der Brücke, welche, wie die deutschen Forscher sich ausdrücken, die »Humoraltheorie« der Immunität mit der phagocytären vereinigen könnte, das werden weitere Untersuchungen erweisen.

Zum Schlusse kann ich nicht umhin, zu sagen, dass das volle Zugestehen der Thatsache der Secretion von Alexinen durch Leukocyten im lebenden Organismus, zum Zwecke der Zerstörung pathogener Thierorganismen und ihrer vollständigen Vernichtung, Hand in Hand geht mit der modernen Richtung der Biologie überhaupt. »Anstatt zur Zelle zurückzukehren, muss die physiologische Forschung der Gegenwart über die Zelle hinausschreiten.« Diese bedeutungsvollen Worte hat Buchner[1]) ausgesprochen in seinem Vortrage »Die Bedeutung der activen löslichen Zellproducte für den Chemismus der Zelle«.

1) Münchner med. Wochenschrift, 1897, Nr. 12.

Digitized by Google

Experimentelle Beiträge zur Methodik der Mauerfeuchtigkeitsbestimmung.

Von

Regimentsarzt Dr. **Franz Ballner.**

(Aus dem hygienischen Institute der Universität in Innsbruck.)

Die Bedeutung eines beträchtlicheren Feuchtigkeitsgehaltes der Mauern bewohnter Gebäude ist in Hinsicht auf die vermehrte Wärmeabgabe der Individuen vom hygienischen Standpunkte vielfach gewürdigt worden.

Mit Rücksicht auf die in neuerer Zeit experimentell gestützte Thatsache, dass die Disposition zu verschiedenen Erkrankungen durch Störungen in der Wärmeöconomie erhöht wird, hat die Gefahr dieser Wärmeabgabe noch mehr an Bedeutung gewonnen.

Es wurde daher schon vielfach vorgeschlagen, den momentanen Gehalt der Mauern an eingelagertem Wasser festzustellen und unter Zugrundelegung einer Grenzzahl den Benutzungsconsens neu aufgeführter Gebäude erst auf Grund eines günstigen Ergebnisses der angedeuteten Prüfung auszusprechen.

Um diesen, vom hygienischen Standpunkte sehr zu begrüssenden Vorschlag, der auch in wirthschaftlicher Hinsicht — man denke an die Brachlegung des zum Hausbau verwendeten Capitales bei Vorschreibung langer Austrocknungsfristen — unsere Beachtung verdient, zur allgemeinen Durchführung zu bringen, wären leicht und ohne besondere Hilfsmittel und Vorkenntnisse auszuführende und doch genügend exacte Methoden die erste Bedingung. Gerade an diesen scheint es

Digitized by Google

aber — wenigstens glauben wir uns aus der Durchsicht der einschlägigen Literatur zu dieser Ansicht berechtigt — zu fehlen. Theils arbeiten die bisher angegebenen Methoden mit complicirten Hilfsapparaten, welche nur ein besser eingerichtetes Laboratorium zu bieten im Stande ist, theils setzen sie eine Summe von Vorkenntnissen und Handgriffen voraus, über welche der minder Geübte und in chemischen Untersuchungsmethoden Unerfahrene nicht verfügt.

Ein Haupthindernis für die Bestimmung des momentanen Wassergehaltes ist die Kohlensäure der Luft, welche, mit dem Calciumoxydhydrat in Verbindung tretend, Calciumcarbonat bildet, so dass die einfachste Art der Bestimmung des Wassergehaltes durch Anwendung hoher Temperaturen zu falschen Ergebnissen führen muss. Eine zweite Schwierigkeit liegt in dem Umstande, dass auch in sehr feuchten Mauern doch nur relativ geringe Mengen Wassers aufgespeichert sind, so dass immerhin genauer arbeitende Methoden nicht umgangen werden können.

Um über die bisher angegebenen Methoden eine Orientirung zu ermöglichen, wollen wir aus der einschlägigen Literatur eine kurze Skizzirung der erdachten Verfahren anschliessen. Um die ganz subjectiven und in primitivster Art durchgeführten Bestimmungen (durch mehr oder minder auftretendes Kältegefühl beim Betasten der Wände, durch Klopfen auf die Wand mit einem metallenen Gegenstand, die sogenannte »Schlüsselprobe«) durch ein wissenschaftliches und einwandsfreies Verfahren zu ersetzen, wurde zuerst über Anregung Pettenkofer's von Gläsgen[1]) versucht, trockene Luft über das zu prüfende Mauermaterial zu leiten, und die auf diese Weise mit Wasserdampf beladene Luft durch Schwefelsäure zu trocknen und die Gewichtszunahme der Schwefelsäure zu bestimmen. So lange diese Versuche mit Stücken von Mauermaterial ausgeführt wurden, brachten sie verwendbare Resultate; doch erwies sich

1) Gläsgen, Ueber den Wassergehalt der Wände und dessen quantitative Bestimmung. Zeitschr. f. Biologie, 1874, 40. Bd., S. 246. Auch ausführlich ref. in Pettenkofer's und Ziemssen's Handb. der Hygiene. Capitel Wohnung von Prof. Emmerich.

Google

die Methode als unbrauchbar, sobald sie an fertigen Mauern angestellt wurde.

Beer[1]) hat diese Methode weiter auszubilden versucht, indem er den Feuchtigkeitsgehalt einer Mauer durch Aspiration von Luft durch die zu prüfende Wand bestimmte. Es wurde dabei in folgender Weise verfahren: Ein luftdichter Kasten, der ein Hygrometer enthält und an einer Seite offen ist, wird mit dieser luftdicht auf eine begrenzte Fläche der Wand aufgepresst; dann wird Luft aspirirt und der Stand des Hygrometers beobachtet. In der Seitenwand des Kastens befinden sich fest eingelassene und verkittete Glasröhren, die durch Gummischläuche mit dem Aspirator in Verbindung gesetzt werden. Statt der vorderen Wand hat der Kasten einen breiten Rahmen, in welchen eine Glasplatte eingelegt ist, und der mittelst Schrauben luftdicht an die Platte angedrückt werden kann. Zur Ausführung des Versuches bestimmt man zunächst den Wassergehalt derjenigen Luft, welche durch die Wand aspirirt werden soll mittelst eines genau controlirten Hygrometers; sodann stellt man dieses im Kasten auf, verschliesst die vordere Wand und beobachtet die Veränderung des Hygrometers, sowohl ohne als mit Aspiration von Luft.

In der früher erwähnten Publikation[2]) wurde von Glässgen eine weitere Methode angegeben; sie besteht darin, den Wassergehalt einer bestimmten Probe durch Erhitzen derselben in wasser- und kohlensäurefreier Luft aus dem Gewichtsverluste zu ermitteln. Es werden hiezu ca. 25 g der Mörtelprobe in einer Liebig'schen Ente, während man einen wasser- und kohlensäurefreien Luftstrom darüberleitet, über einer Spirituslampe durch ungefähr 1 bis $1\frac{1}{2}$ Stunden getrocknet, hierauf lässt man erkalten und bestimmt zuerst das freie Wasser durch

1) C. Flügge, Lehrbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden, 1881, S. 495. (Die Originalarbeit: Beer, Ueber die Bestimmung der Feuchtigkeit der Wände. Dissert. Erlangen 1878 war uns nicht zugänglich.) Cit. auch in Emmerich, Wohnung, a. a. O., S. 484.

2) Ueber den Wassergehalt der Wände und dessen quantitative Bestimmung. (Zeitschrift für Biologie, X.)

Digitized by Google

Wägung, sodann das an Kalk gebundene Hydratwasser durch Ueberleiten von Kohlensäure.

Nach der Methode von Lehmann und Nussbaum[1]), die im Principe der früheren gleicht und nur eine unwesentliche Modification derselben darstellt, werden 2 bis 3 g der zu untersuchenden Mörtelprobe in Kupferschiffchen in eine Glasröhre von ca. 4 bis 5 cm im Durchmesser gebracht. Die Glasröhre kommt in ein Luftbad, welches man am einfachsten mit Hilfe eines cylindrisch gebogenen Rohres aus Schwarzblech sich herstellt. Als Stützen für die Glasröhre sind gespannte Kupfer- oder Messingdrähte im Blechcylinder so eingebracht, dass die Glasröhre gerade in die Mitte des Blechrohres zu liegen kommt. Durch eine tubusartige Öffnung im oberen Theile der Röhre kann zur Messung der Temperatur des Luftbades ein Thermometer eingeführt werden. Kleine Gasflammen ermöglichen, die Temperatur auf 105 bis 110° C. zu bringen. Durch dieses Verfahren können zwar mehrere Mörtelproben gleichzeitig behandelt werden, doch ist es wegen der geringen Dimensionen des Apparates nicht möglich, den Gesammtmörtel, welcher auch kleine Steinchen enthält, in Verwendung zu ziehen, sondern nur den von den Steinchen abgesiebten Feinmörtel, weshalb der Wassergehalt der Steine vernachlässigt werden muss.

Um diesem Nachtheile abzuhelfen, zugleich auch, um eine Methode der Bestimmung der Wandfeuchtigkeit zu suchen, bei welcher beliebig grosse Mengen von Mörtel verwendet werden können, hat Emmerich[2]) eine Methode angegeben, bei welcher 120 bis 200 g des steinhaltigen Gesammtmörtels anstatt in einem kohlensäure- und wasserfreien Luftstrom in einem Vacuumapparat, der nach dem Principe des Soxhlet'schen Trockenschrankes construirt ist, bei 100° C. getrocknet werden, wobei die Einwirkung der Kohlensäure gleichfalls ausgeschlossen ist. Das Evacuiren des Apparates besorgt eine Wasserstrahlpumpe.

---

1) Studien über Kalkmörtel- und Mauerfeuchtigkeit. (Arch. f. Hyg., IX.)

2) Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Mauerfeuchtigkeit. (Arch. f. Hyg., XIV.)

Durch alle diese Methoden kann zwar der Feuchtigkeitsgehalt der Mauerwände mit grösserer oder geringerer Genauigkeit ermittelt werden, doch erfordern alle diese Verfahren viel Zeit und Uebung im experimentellen Arbeiten, konnten daher bis jetzt keinen Anspruch auf allgemeine Verwerthung in der Praxis machen.

Erst durch Einführung einer Untersuchungsmethode, die ohne Umständlichkeit in der Durchführung, ohne eigens hiefür construirte Instrumente und ohne besondere Vorbereitungen, die ferner mit einfachen Hilfsmitteln und in rascher und bequemer Weise von den dazu berufenen ärztlichen und technischen Organen auch auf dem flachen Lande allgemein durchgeführt werden kann, ist Aussicht vorhanden, dass die von der Wissenschaft für die Beurtheilung der Feuchtigkeit, und demnach der Beziehbarkeit von Neubauten aufgestellten Normen auch gesetzlich Verwerthung finden werden. Um diesem Ziele näher zu kommen, wurde von Markl[1]) in Wien im Laboratorium Prof. Kratschmer's eine Methode der Wasserbestimmung angegeben, die auf dem Principe beruht, das freie Wasser des Mörtels mit hochgradigem Alkohol (über 99 Gewichtsprocente) aufzunehmen und das aufgenommene Wasser durch die Veränderung des specifischen Gewichtes des Alkohols aräometrisch zu bestimmen.

Die diesem Verfahren zu Grunde liegende Idee muss entschieden als originell und bestechend bezeichnet werden. Ihre Durchführbarkeit vorausgesetzt, würde sie rasch, vielleicht an Ort und Stelle, ein objectives Urtheil ermöglichen. Auch die Ergebnisse, die Markl mit dieser Methode durch vergleichsweise Bestimmungen derselben Mörtelproben auf gewichtsanalytischem Wege und nach der Alkoholbestimmung erzielte, berechtigten zu der Erwartung, dass ein entscheidender Schritt in dieser Frage gemacht worden sei.

Und doch will es mir scheinen, dass die ganze Durchführung des Verfahrens von soviel Feinheiten in der Arbeit selbst und von soviel unvorhergeschenen Momenten abhängig ist, dass die Durchführung in vielen Fällen versagt und im Stiche lässt!

1) Ueber eine neue Methode zur Bestimmung der Mauerfeuchtigkeit. (Arch. f. Hyg., XXXIV.)

Digitized by Google

Es wird nämlich bei der Ausführung die abgewogene Mörtelprobe in eine ausgetrocknete Glasflasche mit eingeriebenem Glasstöpsel eingetragen, mit 150 ccm Alkohol von bestimmtem und vorher zu ermittelndem specifischen Gewichte geschüttelt und hierauf dieser durch ein trockenes Faltenfilter filtrirt. Im Filtrat wird der Alkoholgehalt mit einem eigens dazu angefertigtem Aräometer unter Berücksichtigung der Temperatur bestimmt und aus der Differenz des specifischen Gewichtes des Alkohols vor und nach der Behandlung mit dem Mörtel das aufgenommene und mithin im Mörtel vorhanden gewesene Wasser berechnet.

Bei der Nachprüfung dieses Verfahrens im hygienischen Institute ergaben sich mancherlei Schwierigkeiten in Hinsicht auf die Durchführbarkeit. Die Manipulation ist solchen Zufällen ausgesetzt, dass es uns zweifelhaft erscheint, ob die Methode den an sie gestellten Anforderungen zu entsprechen vermag und vor Allem als eine für Jedermann zugängliche und expeditive bezeichnet werden kann.

Eine Hauptschwierigkeit besteht darin, dass es nicht immer möglich ist, selbst bei Anwendung mehrfacher Filter, ein klares Filtrat zu erhalten. Wenn auch die zuerst durchgehende Portion nochmals auf das Filter zurückgebracht und die ganze Flüssigkeit wiederholt der Filtration unterzogen wurde, blieb sie doch in manchen Fällen derart milchig getrübt, dass es manchmal geradezu unmöglich war, die Skala des Aräometers zu erkennen.

Dieser Uebelstand erschwert aber nicht nur die Ablesung der Skala, sondern besitzt noch in der Hinsicht eine verhängnisvolle Bedeutung, dass das specifische Gewicht des Alkohols durch die suspendirten Partikelchen wesentlich beeinflusst wird, und hiedurch eine Fehlerquelle besteht, die durch keine Correctur beseitigt werden kann. Die langsame Filtration schafft übrigens noch einen weiteren gewichtigen Uebelstand, indem einerseits der starke Alkohol vermöge seiner hygroscopischen Eigenschaften aus der Luft Wasserdampf aufnimmt, andererseits theilweise verdunstet und hierdurch abermals Veränderungen im specifischen Gewichte erfährt, welche bei der Berechnung fälschlich auf die Wasseraufnahme aus dem Mörtel bezogen werden.

Google

Glatter geht die Filtration allerdings, wenn man die Alkohol-Mörtelmischung durch mehrere Stunden decantiren lässt. Damit entfällt aber ein Hauptvortheil der Methode: die Möglichkeit, in kurzer Zeit das gewünschte Resultat zu erhalten.

Ein weiterer Nachtheil ist die Nothwendigkeit, die Temperatur des Alkohols, wenigstens zur Zeit der Ablesung, auf genau + 15° C. zu bringen, da schon geringe Temperaturunterschiede mit Aenderungen im specifischen Gewichte einhergehen, und hiedurch bei der Berechnung des Resultates bereits beträchtliche Unterschiede sich ergeben. Wie schwierig es aber in der Praxis ist, eine bestimmte Temperatur genau zu erhalten, braucht nicht näher ausgeführt zu werden.

Ferner sind zur Ausführung der alkoholometrischen Bestimmung eigens construirte Aräometer nothwendig, welche soviel Präcision und Genauigkeit erfordern, dass es nicht leicht anzunehmen ist, dass so feine Instrumente als Handelsartikel in jedem Falle befriedigende und vor allem gleiche Resultate liefern werden.

Auch haftet der Methode ein theoretisches Bedenken an, indem nicht nur Wasser, sondern auch Salze des Mörtels vom Alkohol aufgenommen werden. Wenn auch, wenigstens nach Markl, die dadurch bedingten Fehler praktisch bedeutungslos sind, so sind sie doch nicht geeignet, die Methode als eine einwandsfreie erscheinen zu lassen.

Wir möchten endlich noch bezweifeln, dass der für die Methode nothwendige Alkohol von über 99 Gewichtsprocenten in der Praxis überall in tauglicher Qualität zu haben sein dürfte.

Nachdem sich uns also auch die Markl'sche Methode als für die Praxis wenig empfehlenswerth erwiesen hat, legten wir uns die Frage vor, ob man nicht durch die einfache, in jedem chemischen Laboratorium täglich geübte Entwässerung mittels hygroskopischen Substanzen im abgeschlossenen Raume praktisch hinlänglich genaue Resultate erhalten könne. Da aber Mörtel verhältnismässig geringe Wassermengen zu enthalten pflegt, andererseits hygroskopische Substanzen wie Chlorcalcium, Nitrate, Ammoniumverbindungen u. s. w. unter Umständen im Mörtel

Digitized by Google

vorhanden sind, welche die Abgabe des Wassers erschweren, musste an ein möglichst energisch wirkendes Entwässerungsmittel gedacht werden. Nachdem sich concentrirte Schwefelsäure als nicht genügend energisch erwiesen hatte, wurde zu diesem Zwecke Phosphorsäureanhydrit (Phosphorpentoxyd) verwendet, das bekannte, lockere, schneeartige, weisse Pulver, welches mit grosser Begierde Feuchtigkeit anzieht, dabei unter Bildung von Metaphosphorsäure zerfliesst und als eines der energischesten Entwässerungsmittel gilt.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dass eine abgewogene Mörtelmasse in einem Porzellanschälchen ausgebreitet, durch 24 bis 48 Stunden der Wirkung des Phosphorpentoxyds überlassen wurde. Letzteres befand sich in einem grösseren Uhrglase, welches auf einem kleinen Drahtdreifuss über der Mörtelprobe ruhte. Mörtelprobe und Phosphorpentoxyd werden in einen Exsiccator von etwa $^3/_4$ l gebracht und nach bestimmten Zeiten der Wasserverlust des Mörtels durch Wägung mit einer Tarirwaage bestimmt.

Behufs Controle der durch die Entwässerung des Mörtels durch Phosphorpentoxyd erhaltenen Gewichtsverluste wurde gleichzeitig an demselben Mörtelmaterial der Wassergehalt durch eine genaue gewichtsanalytische Methode bestimmt und zwar in der Weise, dass eine bis in die vierte Decimalstelle genau gewogene Mörtelmenge von ca. $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ g in den von Lehmann und Nussbaum angegebenen Apparat gebracht und durch regulirbare Gasflammen bei einer Temperatur von ca. 110° C. erhitzt wurde, wobei eine Wasserstrahlpumpe Luft über die Proben saugte. Selbstverständlich wurde die durchstreichende Luft durch concentrirte Schwefelsäure und Kalibimsstein entwässert und von der Kohlensäure befreit. Nachdem die Temperatur von 110° durch $1^1/_2$ Stunden eingewirkt hatte, wurden, während die Durchsaugung der Luft fortdauerte, die Schälchen erkalten gelassen, sodann rasch in einen Exsiccator über concentrirte Schwefelsäure gebracht, gewogen und aus dem Gewichtsverlust der Wassergehalt der Mörtelmasse in den Schälchen bestimmt.

Digitized by Google

Es zeigte sich nun hiebei, dass im allgemeinen durch die Probe nach Lehmann und Nussbaum ein etwas höherer Wassergehalt gefunden wird als durch die Entwässerung mit Phosphorpentoxyd, doch beläuft sich die Differenz durchschnittlich nur auf $^2/_{10}$ % und übersteigt in keinem der in folgender Tabelle angeführten Versuche 0,4 %.

	Gewichtsmenge	Wassergehalt nach Einwirkung v. P_2O_5 in %	Gewichtsmenge	Wassergehalt nach Lehmann u. Nussbaum
1. Frischer Feinmörtel mit Zusatz von salpetersauren Salzen	16,64 g	4,3 %	1,8240 g	4,6 %
			1,6642 »	4,6 »
	17,63 »	8,3 »	1,6637 »	8,5 »
			1,5244 »	8,5 »
2. Mörtel aus Z. 19 der grossen Infanteriekaserne	15,92 »	0,25 »	2,2920 »	0,5 »
			2,0098 »	0,53 »
3. Mörtel von der Hofmauer des Ferrari-Hauses (Westseite)	16,42 »	3,5 »	2,1220 »	3,7 »
			2,0352 »	3,3 »
4. Frischer Mörtel mit Zusatz von Wasser (a und b)	14,57 »	6,25 »	1,8002 »	6,4 »
a	evac.			
	18,73 »	6,4 »	1,8138 »	6,7 »
b	20,68 »	4,59 »	1,6438 »	4,3 »
	evac.			
	24,93 »	4,61 »	1,5704 »	4,7 »
5. Frischer Mörtel mit Zusatz von Chlorcalcium (a und b)	19,05 »	3,1 »	1,8138 »	3,3 »
a	evac.			
	18,06 »	3,3 »	1,4558 »	3,3 »
b	18,88 »	4,1 »	1,5772 »	4,1 »
	evac.			
	23,58 »	4,2 »	1,8640 »	4,1 »
6. Mörtel von der Westseite einer alten Hofmauer	13,22 »	10,2 »	1,6000 »	10 »
7. Mörtel von der Ostseite einer verfallenen Hofmauer	17,42 »	4,2 »	1,7094 »	4,5 »
	evac.			
	15,51 »	3,9 »	1,6920 »	4,3 »
8. Mörtel von einem Neubau am Saggen	23,26 »	1,8 »	1,8498 »	2 »
	19,28 »	1,86 »	1,4829 »	2,2 »
9. Mörtel aus einem Kellerraum	22,42 »	0,66 »	2,6584 »	0,7 »
	24,45 »	0,68 »	1,9462 »	0,6 »
10. Mörtel aus einer Waschküche	27,59 »	6,9 »	2,1042 »	7,2 »
	20,68 »	7 »	1,6734 »	7,1 »
11. Mörtel aus einer Pferdestallung	13,85 »	4,2 »	2,0262 »	4,5 »
	18,42 »	4,1 »	1,7262 »	4,3 »

Digitized by Google

Die erhaltenen Differenzen sind, wie die Probe 4 zeigt, nicht grösser als die Differenzen, welche man, selbst bei exact ausgeführter Probe nach Lehmann und Nussbaum, unter Umständen erhalten kann. Der Mörtel ist eben kein einheitlich zusammengesetzter Körper, er enthält neben Feinsand und Mauerkalk in wechselnden Mengen Steinchen eingeschlossen, deren Wassergehalt wesentlich vom Wassergehalte der übrigen Mauerbestandtheile abweichen kann.

Nachdem aber die Mehrzahl der Versuche bei der Probe nach Lehmann und Nussbaum einen höheren Wassergehalt ergab als bei der Phosphorpentoxyd-Entwässerung, so stehen wir nicht an, anzunehmen, dass unsere Resultate im allgemeinen um Weniges zu niedrig sind. Vermuthlich wird das Wasser aus den Steinchen leichter durch die Einwirkung der höheren Temperatur ausgetrieben, als es durch Phosphorpentoxyd bei Zimmertemperatur möglich ist. Ob aber dieser Differenz eine Bedeutung innewohnt mit Rücksicht auf den Umstand, dass über den zulässigen Gehalt der Mauerfeuchtigkeit gegenwärtig noch keine Einigung besteht (Gläsgen nimmt als Grenzwerth einen Wassergehalt von 1%, Emmerich von 2% an), diese Frage wollen wir hier nicht zur Entscheidung bringen.

Ein theoretisches Bedenken könnte immerhin erhoben werden, indem aus der Luft des Exsiccatorglases während des Trocknens Kohlensäure aufgenommen werden kann und als Wasser in Rechnung gezogen wird. Bedenkt man aber, wie wenig CO_2 in einer Luftmenge von ca. 700 ccm vorhanden ist, so bleibt das Bedenken eben nur ein theoretisches, das praktisch belanglos ist.

Würde z. B. der Gehalt der Luft an CO_2 1‰ ausmachen, so ergäbe die vorhandene CO_2 bei einer Zimmertemperatur von 20° C. und einem Barometerstand von 760 mm ein Gewicht von nur 1,253 mg. Vermuthlich wird aber, wenigstens bei trockenem Material und der niedrigen Temperatur, von dieser Menge wieder nur ein Bruchtheil aufgenommen, der umsoweniger in Betracht kommt, als bei unserem Verfahren die Wägung nur mit einer Tarirwaage gemacht zu werden braucht, welche Milligramme überhaupt nicht anzeigt.

Google

Im allgemeinen kann man also annehmen, dass das in den zur Untersuchung benützten Mörtelproben vorhandene freie Wasser bis auf geringe und nach unserer Ansicht vernachlässigbare Spuren durch Phosphorpentoxyd entzogen wurde. Sicherlich wird ebensowenig wie durch die Erhitzung bei der angegebenen Temperatur von ca. 110° C. das Hydratwasser, resp. der Gehalt an Wasser, welches mit Calcium als Ca (OH_2) Calciumhydroxyd auftritt, bestimmt. Es fragt sich aber überhaupt, ob diesem Wasser, welches in einer festeren chemischen Bindung sich befindet, eine hygienische Bedeutung zuzuschreiben ist. Die Ansicht Liebig's, dass der Wassergehalt neuer Mauern hauptsächlich von diesem »Hydratwasser« herrühre, ist längst durch Pettenkofer widerlegt. Die Gesammtmenge des Hydratwassers beträgt nur etwa 5% der ganzen, in einem Neubau enthaltenen Feuchtigkeit. Ueberdies wird dieses Wasser ausserordentlich langsam abgegeben, und es dauert sicherlich Jahre, bis alles Calciumhydroxyd in Calciumcarbonat übergeführt ist. Diese Wasserabgabe hat also keinen Einfluss auf die Wärmeöconomie der Bewohner, und es lohnt sich kaum, ihrer Ermittelung mit Zuhilfenahme complicirter Versuchsanordnungen, wie sie von Glässgen und später von Lehmann und Nussbaum angegeben wurden, Rechnung zu tragen.

Die Beispiele 1 und 5 der Tabelle sind noch deswegen besonders bemerkenswerth, weil in diesen Fällen zu den Mörtelproben absichtlich Chlorcalcium und salpetersaure Salze zugesetzt wurden. Es war gerade bei diesen Salzen, welche bekanntlich eine häufige Ursache der Feuchtigkeit älterer und durch den Gebrauch verunreinigter Gebäudemauern bilden, von vorneherein nicht sicher, ob das Phosphorpentoxyd im Stande wäre, auch diesen recht hygroskopischen Verbindungen das Wasser zu entziehen. Die Differenzen bei diesen Bestimmungen sind ebenso geringfügig wie bei den übrigen Proben, ein Beweis dafür, dass der energischen Wirkung des Phosphorpentoxyds die hygroskopische Eigenschaft der obgenannten Salze nicht Stand zu halten vermag.

Bezüglich der Ausführung unserer Bestimmungen wäre noch hervorzuheben: Die Menge der abzuwägenden Mörtelmassen,

Digitized by Google

welche am besten mit einer Stanze aus der Mauer entnommen werden, beträgt ca. 15 bis 25 g; für die Abwägung genügte es, eine Tarirwaage zu verwenden, die Centigramme noch anzeigt. Die Proben brauchen nur im Porzellanmörser zerkleinert zu werden, ein Durchsieben, wie bei Lehmann's und Nussbaum's Methode, ist unnöthig. Hiedurch wird auch ein principieller Fehler, auf welchen Emmerich aufmerksam machte, vermieden. Die oben fixirte Menge Mörtels wird hierauf in eine Porzellanschale gebracht, gleichmässig ausgebreitet und auf einer Tarirwaage, welche Centigramme noch richtig anzeigen muss, gewogen.

Die Wasserentziehung erfolgte in einem möglichst kleinen Exsiccatorglase, in welchem über der Probe auf einem Dreifuss das Phosphorpentoxyd in einem Uhrglase in einer ungefähren Menge von 20 g (3 bis 4 Kinderlöffel) sich befand. In der Regel wurde der Exsiccator bei gewöhnlicher Zimmertemperatur 24 bis 48 Stunden stehen gelassen. Das weisse Phosphorpentoxyd beschlägt sich hierauf bald mit Wassertröpfchen und bildet, besonders an den Rändern, eine glasartige, durchsichtige Masse; bei höherem Wassergehalte des Mörtels findet ein vollständiges Zerfliessen des Phosphorpentoxyds statt, in welchem Falle dasselbe erneuert werden muss.

Um zu ermitteln, ob im luftleeren Raume oder bei etwas höheren Temperaturen die Wasserabgabe an das Phosphorpentoxyd wesentlich gefördert würde, wurden einige Proben im Brutschranke bei 37° C. aufbewahrt, bei anderen (Probe Nr. 4, 5 und 7) der Exsiccator mittelst einer Wasserstrahlpumpe evacuirt. Nennenswerthe bessere Resultate erhielten wir aber hiedurch nicht, so dass wir von dieser Abänderung im Interesse der leichteren Ausführbarkeit in der Praxis abgesehen haben.

Es können in dieser Weise beliebig grosse Mörtelmengen der Untersuchung zugeführt werden, wenn man nur genügend grosse Porzellanschalen und Exsiccatoren, sowie die entsprechende Menge Phosphorpentoxyd verwendet und den Mörtel in einer möglichst dünnen Schichte ausbreitet. Bei wasserarmem Mörtel genügen 24 Stunden, während es bei einem wasserreichen und feuchteren Material angezeigt erscheint, die Einwirkung des

Digitized by Google

Phosphorpentoxyds durch 48 Stunden vor sich gehen zu lassen, da es sich durch Controlversuche erwiesen hat, dass bei einer 24 Stunden gestandenen, sehr feuchten Probe nach weiteren 24 Stunden der Wassergehalt um 0,3% vermehrt gefunden wurde.

Aus dem Vorhergehenden ergibt sich also, dass für die Bestimmung der Mauerfeuchtigkeit mit Phosphorpentoxyd für die Praxis genügend sichere und verwerthbare Resultate erzielt werden können. Die Hilfsmittel zur Ausführung dieser Bestimmung sind leicht zu beschaffen und in den meisten Apotheken ohnedies vorräthig. Man bedarf nur einer Tarirwaage, mit der auf Centigramme genau gewogen werden kann, die sich aber im Nothfalle auch durch eine feine Hornwaage ersetzen lässt. Die Angabe der Centigramme erscheint nothwendig, da sich sonst wegen des schon mehrfach erwähnten geringen Wassergehaltes beträchtlichere Differenzen ergeben würden.

Nebst einem einfachen Exsiccatorglase ist ferner noch Phosphorpentoxyd erforderlich, dessen Anschaffungspreis sich im Verhältnis zu dem geringen Bedarf nicht hochstellt. Nach dem Catalog der chemischen Fabrik von E. Merk in Darmstadt vom October 1899 stellt sich das Kilogramm auf 4,20 Mark, so dass pro Probe das Phosphorpentoxyd auf 8,4 Pfennig oder rund 5 Kreuzer zu stehen kommt.

Zum Schlusse fühle ich mich verpflichtet, Herrn Prof. Lode für die Anregung zu diesen Arbeiten, sowie für seine vielseitige Unterstützung meinen besten Dank auszudrücken.

Digitized by Google

Zwei Apparate zur Bestimmung des Sauerstoffs in Gasgemengen vermittelst der Titrir-Methode.

Von

Dr. **G. W. Chlopin,**

o. Professor d. Hygiene u. Director des hygien. Instituts an der Kais. Universität in Jurjew (Dorpat).

In der vorigen Mittheilung[1]), betreffs der von mir empfohlenen Bestimmung des Sauerstoffes in Gasgemengen vermittelst der Titrirmethode, war Erwähnung gethan, dass ich zur Beseitigung einiger Fehler, die, wie es von mir vorausgesehen war, bei diesem Verfahren vorkommen können, einen Specialapparat construirt habe.

Zur Zeit kann ich zwei solcher Apparate vorweisen.

Die Figuren Nr. 1 A und B stellen den einfachsten Typus des Apparates; Nr. 2 A den completten Apparat; Nr. 2 B die einzelnen Theile desselben dar[2]).

Der ganze Apparat besteht aus einer Glasflasche von 150 bis 180 ccm Inhalt; die Decke der Flasche besitzt zwei Oeffnungen; in deren eine, nämlich *y*, kommt die bei *d* eingeschliffene Glasröhre *b* hinein, die mit einem Glaskrahnen *g* versehen ist und fast bis zum Boden der Flasche reicht, wie aus der Figur Nr. 1, A ersichtlich ist. Die zweite Oeffnung setzt sich fort in eine Röhre *e*, die einen Krahn besitzt. Auf das obere, kegelförmig zugeschliffene Ende der Röhre *b* wird die Röhre *c*, die

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XXXIV, Heft 1, S. 71.

2) Die Apparate sind bei P. Altmann in Berlin (Luisenstrasse 52) hergestellt. Der Apparat Nr. 2 mit dem Thermometer ist doppelt so theuer wie der Apparat, welcher unter Nr. 1 dargestellt ist.

Digitized by Google

eine Bürette von 20 ccm Inhalt darstellt, aufgesetzt, und deren unteres Ende genau nach dem oberen Ende der Röhre *b* zugeschliffen ist.

Die Figur Nr. 2, A und B stellt den zweiten, complicirteren Apparat dar, und nämlich A den completten und B die einzelnen Theile desselben. Dieser zweite Apparat unterscheidet sich von dem ersten dadurch, dass er im Centrum der

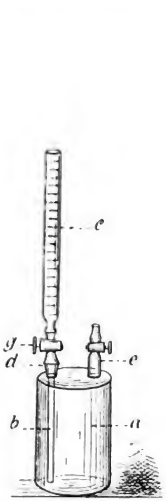


Fig. 1 A.

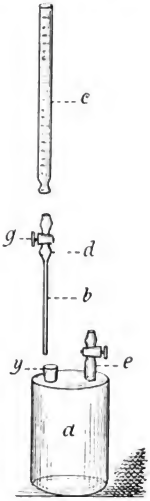


Fig. 1 B.

Decke des Reservoires noch eine dritte Oeffnung *x* besitzt. Durch diese Oeffnung steckt man das Thermometer *f* in den Apparat hinein. Das Thermometer ist mit Theilstrichen von je 0,2° C. versehen und hat eine Skala von $-10°$ bis $+25°$ C.; bei *h* ist das Thermometer für die Oeffnung *x* genau zugeschliffen. Die Grösse und die übrigen Theile dieses Apparates sind mit den betreffenden Theilen des ersten Apparates identisch.

Digitized by Google

Vor dem Gebrauche werden die Krähne, die zugeschliffenen Stellen der Röhre *b* und des Thermometers *f* ein wenig mit Vaselin bestrichen.

Die Bestimmung des Sauerstoffes vermittelst dieser Apparate geschieht folgendermaassen:

Nachdem die Apparate calibrirt sind, giesst man in dieselben je 15 ccm einer Lösung von Manganchlorür (40 g $MnCl_2+4H_2O$

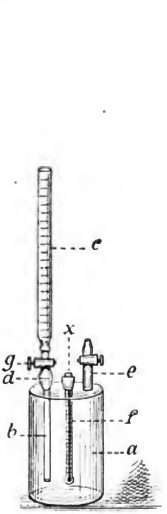


Fig. 2 A.

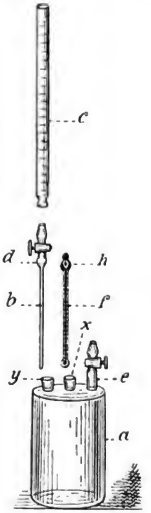


Fig. 2 B.

und 60 ccm Wasser oder 33,34 g entwässerten Salzes, in 66,66 ccm Wasser gelöst) und stellt sie in ein Gefäss mit Wasser. Die zu untersuchende Luft oder andere Gasgemenge werden durch die langen Röhren *b* in die Apparate geleitet. Nach einiger Zeit wird die Temperatur des Gasgemenges, das untersucht werden soll, bestimmt und zwar: 1. entweder, indem man die Temperatur des Wassers, das zur Aufnahme des Apparates dient, bestimmt

(falls man mit Apparat 1 arbeitet); 2. oder durch Ablesen des im Apparat selbst befindlichen Thermometers (falls Apparat 2 in Arbeit ist); es wird auch der Barometerstand notirt.

Darauf setzt man die Bürette *C* auf das obere Ende der Röhre *d* und füllt die Bürette mit einem Gemenge von Jodkalium und Natronlauge (30 g KJ + 32 g NaOH in 100 ccm Lösung) und lässt, indem man den Krahn *g* öffnet, 15 ccm des Gemenges in die Flasche fliessen, ohne dieselbe aus dem Wasser herauszunehmen. Sodann wird der Inhalt der Apparate geschüttelt bis zum Momente der völligen Absorption des Sauerstoffes; dieser Moment wird erkannt an dem Uebergange der anfänglich schwarzbraunen Färbung des Inhaltes der Apparate in eine gelbbraune. Zum Schluss wird durch die Röhre *d* concentrirte Salzsäure in die Flasche gegossen; die Säure löst die Oxydverbindungen des Mangans, wobei Jod frei wird, welches mit der $^1/_{10}$ normalen Lösung von Natriumthiosulfat (24,8 g in 1 l Wasser) titrirt wird.

Bei dem eben beschriebenen Verfahren geschieht die ganze Bestimmung des Sauerstoffes bei völliger Sättigung der zu untersuchenden Gasgemenge mit den Dämpfen der Manganchlorürlösung.

Den Untersuchungen von Prof. G. A. Tamman[1]) gemäss ist die Spannung der Dämpfe einer wässerigen Manganchlorürlösung von der angegebenen Concentration (33,34 g $MnCl_2$ + 66,64 g Wasser) bei jeder Temperatur gleich der Spannung der bei derselben Temperatur den Raum sättigenden Wasserdämpfe, multiplicirt mit dem Coëfficienten 0,857.

Daher geschieht die Berechnung des Volumens der untersuchten Gasgemenge nach folgender Formel:

$$v^0 = \frac{(v^t - 30)(B - h \times 0{,}857)}{(1 + \alpha^t) \cdot 760}.$$

1) Memoires de l'Académie des sciences de St. Petersbourg, Serie VII, T. 35, Nr. 9, p. 120, 1887.

Digitized by Google

Hierbei bedeuten:

v^0 — das zu bestimmende Volumen des zur Untersuchung benutzten Gasgemenges in getrocknetem Zustande bei 0° C. und 760 mm Barometerdruck.

v^t — das Volumen des untersuchten Gasgemenges bei der Temperatur t und dem Barometerdruck B.

30 — das Volumen der in den Apparat gegossenen Reagentien.

h — die Spannung der Wasserdämpfe bei der Temperatur t.

0,857 — ist der Coëfficient zur Umrechnung der Spannung der Wasserdämpfe in die Spannung der Dämpfe der Manganchlorürlösung.

α — ist der Ausdehnungscoëfficient der Gase.

760 — der normale Barometerstand.

Der Procentgehalt des in den untersuchten Gasgemengen enthaltenen Sauerstoffes wird aus folgender Formel berechnet:

$$x = \frac{0{,}5592 \cdot n \cdot 100}{v^0}.$$

In dieser Formel bedeuten:

0,5592 — die Menge des Sauerstoffes, bei 0° und 760 mm Barometerdruck, in Cubikcentimeter ausgedrückt, die 1 ccm der $^1/_{10}$ normalen Lösung von Natriumthiosulfat entspricht.

n — die Zahl der Cubikcentimeter der Natriumthiosulfatlösung, die zum Titriren des bei der Bestimmung ausgeschiedenen Jods verbraucht wurden.

v^0 — bedeutet dasselbe, wie in der vorigen Formel.

Zur Schätzung der beschriebenen Apparate habe ich eine Reihe von Bestimmungen des Sauerstoffgehaltes der Luft ausgeführt, und nämlich gleichzeitig nach meiner Methode und nach der eudiometrischen Methode von Bunsen; bei dem letzteren Verfahren wurde der Sauerstoff vermittelst Verbrennung mit überschüssigem Wasserstoff bestimmt.

Die erhaltenen Resultate sind in der Tabelle auf S. 328 zusammengestellt.

Die Bestimmung des Sauerstoffs in der Zimmer- und Aussenluft in Volumprocenten.

	Nach der Methode von G. W. Chlopin		Nach Bunsens Explosionsmethode
	mit d. Apparate ohne Thermometer	in d. Apparate mit dem Thermometer	
1.	20,96	20,96	20,96
2.	20,85	20,93	20,92
3.	20,97	20,94	20,93
4.	—	20,76	20,76
5.	21,13	—	20,98
6.	21,05	21,04	20,96
7.	20,89	20,84	20,88
8.	20,80	20,74	20,60
9.	21,09	20,95	20,91
10.	20,92	20,85	20,81
11.	21,23	21,09	20,95
Im Mittel	20,99	20,91	20,88
Fehler im Mittel	+ 0,11	+ 0,03	0
Maximum	+ 0,28	+ 0,14	0

Aus dieser vergleichenden Tabelle ist es ersichtlich, dass die Bestimmung vermittelst der beiden Apparate sehr gute Resultate gibt, durchschnittlich etwas höhere, als die Bunsensche Methode, was auch vorherzusehen war, wie ich es in der ersten Mittheilung erwähnt habe Der Apparat mit dem Thermometer (Nr. 2) liefert durchschnittlich, wie auch bei jeder einzelnen Bestimmung, Resultate, die denen der Bunsen'schen Methode so nahe kommen, dass ich diesen Apparat nicht nur zu hygienischen Untersuchungen, sondern auch zu physiologischen, wie z. B. zur Bestimmung des Gaswechsels bei Thieren und beim Menschen, empfehlen kann.

Digitized by Google

Untersuchungen über Milchsäuregärung und ihre praktische Verwerthung.

Von

Dr. **Stanislaus Epstein,**
Assistenten am Institute.

(Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

Die Kenntnis von der Gerinnung der Milch unter Bildung von Säure ist uralt, und bei verschiedenen Hirtenvölkern finden wir diese Processe sogar bis zu einer gewissen technischen Fertigkeit durchgearbeitet. Neben der einfachen saueren Gerinnung der Milch war ebenfalls schon seit undenklichen Zeiten die Entstehung von berauschenden Getränken aus der Milch unter gleichzeitiger Säuerung derselben bekannt.

Das wissenschaftliche Verständnis für diese Prozesse liess lange auf sich warten und man begnügte sich zunächst damit, die allgemeinen Vorstellungen über Gärungen darauf zu übertragen. Das wirkliche Verständnis konnte erst einsetzen mit der Erkenntnis, dass die Milchsäure eine besondere Säure ist, denn nur dadurch wurde die Trennung der Milchsäuregärung von anderen saueren Gärungen möglich.

Die alten Daten hat Kopp in seiner Geschichte der Chemie 1843—47 zusammengestellt. Eine eingehende auf dem Studium der Quellen begründete Geschichte der Milchsäuregärung hat Hueppe[1]) 1884 gegeben.

1) Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. Mittheilungen aus dem k. Gesundheitsamte, II, 1884, S. 309.

Scheele hatte 1780 die Milchsäure in der saueren Milch entdeckt und auf ihre Aehnlichkeit mit Essigsäure hingewiesen, ein Vergleich, der noch lange in verschiedenen Formen in Geltung blieb, so wenn Lavoisier von unvollkommener Essigsäure, andere Beobachter von maskirter Essigsäure sprachen. Berzelius, der die Milchsäure in verschiedenen Flüssigkeiten entdeckte, schied zuerst streng zwischen Milchsäure und Essigsäure. Trotzdem kamen auch später noch derartige Verwechslungen vor, die erst durch die Untersuchungen von Liebig, Mitscherlich, Gay Lussac, Pelouze (1833) endgültig beseitigt wurden durch den Nachweis, dass die Milchsäure eine wohl charakterisirte, ganz bestimmte Säure ist. Würtz (1858) und Kolbe (1859) stellten zuerst die Constitution der Milchsäure als einer Oxy-Propionsäure fest, eine Ermittelung, welche durch die Synthese von Strecker bestätigt wurde.

Wenn auch schon früher gelegentlich Organismen in der Milch beobachtet worden waren, so waren doch die ersten Theorien über die sauere Gerinnung der Milch rein chemischer Natur, wie sie z. B. von Gay Lussac, Berzelius, Liebig mit verschiedeneren Modificationen vertreten wurden, indem man annahm, dass chemische Körper, z. B. die Essigsäure nach Berzelius oder in Zersetzung befindliche Körper nach Liebig katalytisch auf den Milchzucker einwirkten. Die Umsetzung von Zucker in Milchsäure als eine besondere Gärung, die sich von anderen Gärungen scharf unterscheidet, erkannten zuerst Boutron-Chalard und Fremy[1]). Als Ferment dieser Gärung sprachen sie das Caseïn an und ermittelten ferner, dass die Gärung beliebig lang ausgedehnt werden kann, wenn man die gebildete Säure immer wieder neutralisirt.

Turpin[2]) (1837), Fuchs[3]) (1841) erklärten zuerst die Zersetzungen der Milch durch die Lebensthätigkeit von Lebewesen und zwar letzterer gestützt auf schöne Versuche mit blauer

1) Compt. rend., 1841, Bd. 12, p. 728.

2) Compt. rend., 1837, Bd. 5, p. 822.

3) Magazin für die gesammte Thierheilkunde von Gurlt und Hertwig, 1841, Bd. VII, S. 133.

Milch. Auch Blondeau[1]) nahm Lebewesen an, die aber durch Contact wirken sollten.

Bis dahin wurde aber die Milchsäuregärung nicht auseinander gehalten von der Gerinnung der Milch durch Lab, und die Labgerinnung wurde von Lehmann (1850), von Haubner und Trommer (1852) und von Soxhlet noch 1873 als Säurewirkung aufgefasst. Erst Hammarsten[2]) hat 1872 die beiden Gerinnungsvorgänge durch Säure und Lab als vollständig verschiedenartig erkannt.

Inzwischen hatte schon 1857 Pasteur[3]) durch Uebertragungen von saurer Milch auf frische Milch und Zuckerlösungen die Säuregärung auf die Lebensthätigkeit von Kleinlebewesen zurückgeführt. Allerdings gelang es Pasteur mit seinen damaligen Methoden nicht die Milchsäuregärung von ähnlichen Vorgängen genügend rein auseinander zu halten. Dass man auf dem von Pasteur betretenen Wege bei fortgeschrittener Technik den vollen Einblick in den Zusammenhang hätte ermitteln können, hat später Grotenfelt[4]) in einer unter Hueppe's Leitung ausgeführter Arbeit gezeigt.

Einen weiteren Schritt zur Klärung verdanken wir Lister[5]), der 1873 durch Verdünnung von saurer Milch und Uebertragung der so isolirten Keime auf vorher keimfrei gemachte Milch ermittelte, dass nur diejenige Milch gerinne, in welche Keime hineingelangt waren. Aber auch die Lister'sche Methode war noch zu unsicher, so dass die Ansichten noch immer in schroffster Weise auseinandergingen, und besonders unter den Chemikern die Ansicht der Contactwirkung in Geltung blieb. Erschüttert wurde diese Ansicht aber weiter durch den Nachweis von

1) Journal de Pharmacie et de Chimie, 1847, Bd. 12, p. 244.

2) Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie pro 1872, Bd. II, 1874, S. 118.

3) Compt. rend., 1857, Bd. 45, p. 913; 1859, Bd. 48, p. 337; 1861, Bd. 52, p. 344.

4) Fortschritte der Medicin, 1889, Nr. 4.

5) Quarterly Journal of Microscopial Science, 1873, Bd. 13, p. 380; Transactions of the Pathological Society of London, 1878, Bd. 29.

Roberts[1]) 1874, Cheyne[1]) 1882, vor Allem aber von Meissner[1]) 1882, dass unter gewissen Vorsichtsmaassregeln entnommene Milch spontan nicht sauer werde.

Der positive Beweis, dass die spontane Gerinnung der Milch durch Milchsäurebildung nur durch die Lebensthätigkeit von Kleinlebewesen veranlasst wird, wurde erst einwandsfrei 1884 von Hueppe a. a. O. erbracht. Derselbe ermittelte durch eingehendes Studium der Lebenseigenschaften der rein cultivirten Organismen und Uebertragung auf verschiedene keimfreie Lösungen, dass wirklich und nur durch Bacterien Milchsäuregärung zu Stande kommt. Die damals angenommene Sporenbildung des zuerst isolirten Milchsäurebacillus hat sich später als irrthümlich herausgestellt, ebenso wie z. B. die gleichzeitige Angabe von Endosporen der Typhusbacillen durch Gaffky; diese specielle Methodik zum Nachweise der Sporen wurde erst später weiter ausgebildet. Aber der erste und grundlegende Theil der Arbeit über die Sterilisirungsmöglichkeiten der Milch und die Ermittelung mehrerer Methoden zu diesem Zweck ist später immer wieder bestätigt worden und bildet die Grundlage des modernen Molkereiwesens, soweit dasselbe mit der Keimfreiheit sich zu beschäftigen hat. Auch das Soxhlet'sche Verfahren ist nichts weiter als eine specielle Anwendung dieser Ermittelungen. Ebenso unerschüttert blieb die Thatsache, dass nur die Auslösung durch Kleinlebewesen Milchsäuregärung herbeiführt.

Die weiteren Untersuchungen von Hueppe[2]) haben dann festgestellt, dafs es nicht einen, sondern mehrere Milchsäureerreger gibt. Damit wurde zum ersten Male die Auffassung von Pasteur über specifische Gärungen und ihre Erregung durch specifische Gärungsorganismen grundsätzlich dahin erweitert, dass die durch ihre Hauptproducte, z. B. die Milchsäure, die Buttersäure gekennzeichneten Gärungen durch verschiedenartige Bacterien eingeleitet werden können.

---

1) Hueppe, a. a. O., S. 325.

2) Deutsche medicinische Wochenschrift, Nr. 48 ff., 1884.

Digitized by Google

Weitere Feststellungen betrafen die Aërobiose und Anaërobiose der Milchsäuregärung, wobei die grössere Empfindlichkeit der Bacterien bei Luftabschluss gegenüber der Säure ermittelt und klargestellt wurde, dass bei Luftabschluss reine Spaltungen auftreten.

Es wurde demnach in grundsätzlicher Erweiterung der Pasteur'schen Formulierungen von Hueppe ermittelt, dass verschiedenartige Organismen unter verschiedenen Lebensbedingungen wohl Milchsäuregärungen herbeiführen, dass aber die Nebenproducte und das Verhältnis der Producte zu einander nach Arten und Bedingungen einem Wechsel unterworfen sind.

Diese Untersuchungen wurden aus dem Hueppe'schen Laboratorium durch Grotenfelt[1]) und Scholl[2]) dahin erweitert, dass es auch Milchsäuregärungen gibt mit einem eigenthümlichen Aroma, welches anderen fehlte, und dass die Intensität der Milchsäurebildung bei verschiedenen Arten von Bacterien grossen Schwankungen unterworfen ist und auch von der Natur und Menge des Eiweisses bei deren Ernährung abhängt.

Diese Ermittelungen wurden zuerst von Marpmann[3]) bestätigt und durch den Nachweis von weiteren Milchsäureerregern ergänzt. Dann folgten Untersuchungen von Escherisch[4]), Löffler[5]), Adametz[6]), Krüger[7]), Fokker[8]), Weigmann[9]), Kayser[10]), Flügge[11]), Leichmann[12]), Günther und Thierfelder[13]), von Freudenreich[14]). Eine andere Reihe von

1) Fortschritte der Medicin, 1889, Nr. IV.

2) Fortschritte der Medicin, 1890, Nr. II; Die Milch, 1891.

3) Ergänzungshefte zum Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege, Bd. II, S. 117.

4) Darmbacterien des Säuglings, 1886.

5) Berliner klin. Wochenschrift, 1887, S. 631.

6) Landwirthschaftliche Jahrbücher, 1889, S. 227.

7) Centralblatt für Bacteriologie, 1890, Bd. VII, S. 425.

8) Ned. Tijdschr. v. Geneeskunde, 1890, S. 88 u. 509.

9) Landwirthschaftl. Wochenblatt für Schleswig-Holstein, 1890, Nr. 29.

10) Annales de l'Institut Pasteur, 1894, p. 738.

11) Zeitschrift für Hygiene, 1894, Bd. XVII, S. 272.

12) Milchzeitung, 1894, Nr. 33, 1896, Nr. 5.

13) Archiv für Hygiene, 1895, Bd. XXV, S. 164.

14) Centralblatt für Bacteriologie, Abth. II, 1897, S. 230; 1898, S. 170; 1899, S. 243.

Google

Beobachtern ermittelte bei anderen Gelegenheiten Organismen, welche in Zuckerlösungen Milchsäure bildeten, z. B. Nencki und Sieber[1]); Tate[2]) fand solche Organismen auf Birnen, Epstein[3]) in Rübensäften. Der wichtigste dieser Organismen ist der von Schardinger[4]) in Wasser gefundene Bac. acidi laevolactici, mit dem es Schardinger gelang, die bis dahin noch nicht dargestellte Linksmilchsäure chemisch rein darzustellen.

Nach Storch (private Mittheilung aus 1898) soll sich bei Vergleich der Colonien auf mikrophotographischem Wege die Zahl der Arten noch vermehren lassen. Andererseits ist aber festgestellt, dass manche früher als verschieden angesehene Arten nur Modificationen einer und derselben Art sind, die sich bei verschiedenen Ernährungsbedingungen einstellen und deren relative Constanz nur abhängig ist von dem Gleichbleiben dieser Bedingungen.

Die Feststellung, dass die Milch unter dem Einflusse verschiedenartiger Bacterien etwas von einander verschiedene Milchsäuregärungen erfahren kann — wobei entweder die Menge der Milchsäure eine verschiedene ist oder der Geruch ein aromatischer oder unangenehmer ist oder gar kein Geruch vorhanden ist — veranlasste Hueppe in einem Vortrage, den er am 2. Februar 1889 in der Generalversammlung des deutschen milchwirthschaftlichen Vereins in Berlin auf Wunsch der Vereinsleitung hielt und mit zahlreichen Demonstrationen erläuterte, zu einer Uebertragung dieser Ermittelungen auf die Praxis, die dahin ging, dass man dort, wo man die Butter aus saurer Milch oder sauerem Rahm herstellt, die pasteurisirte oder frische Milch oder den Rahm mit Reinculturen von bestimmten Milchsäureerregern impfen solle, um auf diese Weise eine Butter von ganz bestimmter Beschaffenheit, z. B. ganz

1) Wiener Akademieberichte, Mai 1889, Bd. 48; Centralblatt für Bacteriologie, Bd. 9, Nr. 9.

2) Journal of chemical Society, Transactions, 1893, S. 1263.

3) Archiv für Hygiene, 1899, Bd. 36, S. 145.

4) Wiener Akademieberichte, 1890, Bd. 49.

bestimmtem Aroma, zu gewinnen. Dieses Verfahren wurde von Hueppe's Schüler, Grotenfelt, damals nach Finnland und Skandinavien bekannt gemacht und besonders von Storch in Dänemark praktisch so ausgebildet, dass die auf diese Weise hergestellte dänische Butter auf dem Weltmarkte vielfach die ersten Preise erzielte und Butter anderer Herkunft verdrängte. In Deutschland hat sich besonders Weigmann um die Ausbildung des Verfahrens bemüht, und jetzt liefern schon eine grosse Anzahl von Laboratorien solche »Säurebildner« oder »Säurewecker« fabriksmässig.

Neben diesen Untersuchungen, welche vom wissenschaftlichen Verständnis der spontanen Milchsäuregärung ausgingen und zu einer praktischen Verwerthung der Ergebnisse führten, welche das ganze Molkereiwesen zuverlässiger gestaltete, gingen Untersuchungen über die Prozesse, welche bei der Käsereifung eine Rolle spielen.

Nach Martiny's[1]) Darstellung haben die alten Inder wohl die Butter aber nicht den Käse gekannt, während umgekehrt bei den alten Juden Käse aber nicht Butter bekannt war, und das von Luther als Butter übersetzte Wort gegorene Milch bedeutet. Den Aegyptern war Käse aus Schafmilch bekannt, ebensowie den Griechen, welche zur Gewinnung des Käses die Milch mit Feigensaft labten. Auch die Skythen kannten schon Käse aus Stutenmilch. Bei den Römern waren schon verschiedene Käse in Gebrauch und man bediente sich zum Laben verschiedenartiger Mittel: Thierlab, Essig und Feigensaft. Die Herstellung der Käse muss schon eine hohe Stufe erreicht haben, und es werden neben gewöhnlichen Käsen auch Luxuskäse unter verschiedenen Namen erwähnt. Die Butter wird bei den Römern nur als Heilmittel verwerthet. Auch die Germanen verwendeten schon von altersher Käse, während sie die Butter als Pomade gebrauchten. Für den jetzigen Zustand der Käsefabrikation sind besonders die Schweizer von Bedeutung, deren urkundliche Erwähnung auf 1252 zurückgeht.

1) Die Milch, ihr Wesen und ihre Verwerthung, 1871.

Digitized by Google

Den ersten Versuch eines wissenschaftlichen Verständnisses verdanken wir F. Cohn[1]), der die Käsereifung durch Vegetation von Heubacillen, B. subtilis, erklärte (1875). In ähnlicher Richtung bewegen sich die Untersuchungen von Duclaux[2]), der 1882 sein Werk herausgab. Er glaubt bei der Käsereifung die Lebensthätigkeit von Bacterien festgestellt zu haben, die er mit dem Samelnamen Tyrothrix belegt. Die Reifung soll darin bestehen, dass diese Bakterien durch proteolytische Enzyme das Paracaseïn in Casease und diese weiter in Extractivstoffe und diese weiter in Leucin, Tyrosin, Ammoniumsalze der Fettsäuren und Ammoniumcarbonat zerlegen. Da die Käse bei der Reifung weich werden und das Eiweiss eine Veränderung eingeht, die im Sinne einer hydrolytischen Spaltung zu verlaufen scheint, so schienen diese Untersuchungen thatsächlich das Verständnis der Käsereifung zu enthalten. Diese Tyrothrixarten von Duclaux gehören, wie Hueppe an eingeschickten Culturen festgestellt hatte, in die Gruppe der Heu-, Erd- und Kartoffelbacillen, also wie der B. subtilis von Cohn, und alle diese Arten scheiden proteolytische Enzyme aus. Wenn sie in Reinculturen auf Milch übertragen werden, so wirken sie nach Hueppe[3]) derart, dass das Caseïn labähnlich ausgeschieden wird, wobei die Reaction meist alkalisch wird. Das ausgeschiedene Kaseïn wird dann thatsächlich peptonisirt und geht Farbenveränderungen ein, wie man sie beim Käse von aussen nach innen abnehmend wahrnimmt. Je nach den Arten werden dabei auch Fäulnisproducte oder bitter schmeckende Producte gebildet.

Gewisser Analogien entbehren diese an Culturen ermittelten Thatsachen mit der Käsereifung nicht, und man kann sich deshalb nicht wundern, dass diese Ansicht ziemlich allgemein angenommen wurde, besonders nachdem durch Adametz[4]) 1889 ermittelt wurde, dass Kreolin, Thymol, welche die Eiweisskörper nicht

1) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1875, Heft 3, S. 190.

2) Le Lait, 1882.

3) Mittheilungen aus dem k. Gesundheitsamt, 1884, II, S. 353; Berliner klin. Wochenschrift, 1891, Nr. 29.

4) Landwirthschaftliche Jahrbücher, 1889, Bd. 18, S. 261.

verändern, die Vegetation der Mikrobien aufhalten und so das Reifen der Käse unmöglich machen. Besonders würde die Reifung der Weichkäse mit den Ansichten von Cohn und Duclaux und den Ermittelungen von Hueppe sich sehr wohl in Einklang bringen lassen. In der That schreiben auch noch später Schirokich[1]), ebenso Chodat und Hofman-Bang[2]) die Käsereifung den Tyrothrixarten zu.

Allerdings können labähnliche Gerinnungen der Milch mit folgender Peptonisirung des ausgeschiedenen Käsestoffes bei Verwendung von roher Milch, wie sie in der Käsebereitung früher ausschliesslich üblich war, auch eintreten bei Abwesenheit von Bacterien, wie Meissner[3]) 1882 ermittelt hatte. Auch nach neueren Versuchen von Babcock und Russel[4]) enthält die Milch ein von ihnen Galactose genanntes, peptonisirendes Enzym, wohl als Derivat der Milchdrüsen, und dieses könnte ebenfalls in der Richtung wirken wie wir sie bei der Käsereifung an den Eiweisskörpern wahrnehmen, allerdings nur bei Käsen aus nicht erwärmter Milch, weil das Enzym durch Hitze von 70° zerstört wird.

Aber schon frühzeitig wurde eine Beobachtung gemacht, welche damit nicht in Einklang zu bringen ist. Doch diese Beobachtung wurde an Hartkäsen gemacht. Diese Ermittelung entstammt gemeinsamen Arbeiten von Hueppe nach der wissenschaftlichen Seite und von Persyn nach der praktischen, die im Jahre 1888 auf Veranlassung des Rittergutsbesitzers F. W. Schmitz in Winnenthal am Rhein einander ergänzende Versuche machten, nachdem Persyn bereits seit 1887 das Verfahren rein empirisch eingeführt hatte. Persyn[5]) hat nach dieser Richtung auch seine Priorität gegenüber Boekel festgestellt. Dieses Verfahren bestand darin, dass Molke von besonderer Beschaffenheit, die sogenannte lange Wey, wie sie in Holland schon längere Zeit als angeblicher Milchfehler bekannt war, zum Impfen

1) Annales de l'Institut Pasteur, Bd. XII, p. 400.

2) Bulletin de l'Herbier-Boissier, Bd. XI, Nr. 9.

3) Mitgetheilt von Rosenbach. Die chirurgische Klinik in Göttingen. 1882, S. 227, und Hueppe, a. a. O., S. 345.

4) Centralblatt f. Bact., 2. Abth., Bd. 3, 1897, S. 615; Bd. 6, 1900, S. 17.

5) Milch-Zeitung, 1889, Nr. 22.

by Google

von neuer Molke verwendet wurde, mit der die Milch inficirt wurde, welche zur Darstellung von Gouda- und Edamerkäse in Holland diente. Der Name lange Wey rührt daher, dass derartig inficirte Molke oder Milch fadenziehend wurde. Die speziellen Untersuchungen ergaben nun, dass diese lange Wey erregt wird durch einen Streptococcus (Streptococcus hollandicus Hueppe), der bei Zimmertemperatur neben Milchsäure aus dem Zucker Schleim bildet, während bei höherer Temperatur der letztere zurücktritt und die Milchsäure überwiegt. Es handelt sich also um eine specifische, bis dahin ganz unbekannte Milchsäuregärung. Die mit solcher langer Wey hergestellten Hartkäse wurden als ganz besonders gut gerühmt und erzielten auf den Ausstellungen in Holland die ersten Preise.

Es war damit zum ersten Male und im schroffen Gegensatze zur Auffassung von Cohn und Duclaux der Beweis geliefert, dass bei einer Art von Hartkäsen für die Reifung nicht die Tyrothrixarten, sondern die Art der Milchsäuregärung das entscheidende ist. Auch in der Schweiz hatte man bereits günstige Erfahrungen gemacht bei anderen Hartkäsen (Emmenthaler), bei denen die Herstellung durch Zusatz von saurer Molke gesichert wurde.

An diese praktischen Erfahrungen knüpfte später v. Freudenreich[1]) an und ermittelte für die Schweizer Hartkäse Folgendes. Die von Duclaux und Cohn als Erreger der Käsereifung angesehenen, die Gelatine verflüssigenden Bacterienarten sind in Milch und Käse wenig zahlreich. Werden sie absichtlich dem Käse zugesetzt, so sterben sie sogar ziemlich schnell ab; auf jeden Fall tritt keine besondere Vermehrung derselben ein, so dass sie für diese Käse mit der Reifung nichts zu thun haben. Bei der Reifung der Hartkäse sind es hauptsächlich die Milchsäurebacterien, welche sich an derselben betheiligen, indem sie bei ihrer Ernährung durch Zerlegung des Zuckers Gas bilden, welches die Löcher oder Augen des Käses bewirkt, und andererseits das Eiweiss, von dem sie leben, auch verändern.

1) Centralblatt f. Bacteriologie, 1895, Abth. II, Bd. XVII, S. 168, 230, 271, 342, 854.

Nach Weigmann[1]) scheint es Bacterien zu geben, welche Paracaseïn und Caseïn peptonisiren, gleichzeitig aber specifischen Käsegeruch und -Geschmack hervorrufen. Er unterscheidet: 1. Caseasebacterien und -pilze, d. h. peptonisirende Arten, welche sich nicht an der Bildung von Geruch und Geschmack betheiligen; 2. Käsepilze, welche durch Wirkung auf Caseïn käseartigen Geruch und Geschmack hervorrufen; 3. Käsepilze mit specifischem Käsecharakter, d. h. welche einen feineren oder intensiven, selbst mehr fauligen Käsegeruch hervorrufen als die vorher genannten; 4. Bacterien und Pilze, welche aromatische Stoffe oder fruchtesterartigen Geruch hervorrufen.

Olsen[2]) schliesst sich der Ansicht an, dass sich verschiedene Bacterien bei der Käsereifung betheiligen, meint aber doch, dass das Gelingen der Käse von der Milchsäuregärung abhängt, dass sie mindestens die Käsereifung einleiten.

Diese Ansicht ist übrigens praktisch schon seit langer Zeit verwerthet. Auf einer Reise in Griechenland und Kleinasien sah Hueppe[3]) von der einheimischen Bevölkerung saure Milch als Nationalgetränk verwerthet, von den Griechen und Türken Jaurti, von den Armeniern Mazun genannt. Die Herstellung erfolgt im allgemeinen so, dass frische Milch mit einem Löffel saurer Milch vom vorhergehenden Tage inficirt und dann nach Umrühren sich selbst überlassen wird. Geht einmal die saure Milch aus, so wird die Einleitung der neuen Reihe dadurch erzielt, dass man ein Stückchen Käse in die frische Milch gibt. Es ist der dortigen Bevölkerung demnach bekannt, dass bei der Käsereifung dieselben Fermente thätig sein müssen, welche die Säuerung der Milch bewirken.

Später hat dann Weigmann[4]) auch zugegeben, dass die Milchsäurebacterien einen wesentlichen Einfluss ausüben und wenigstens die Käsereifung in die richtige Bahn lenken. Ferner

1) Centralblatt f. Bacteriologie, 1896, Abth. II, Bd. XX, S. 150, 207.

2) Centralblatt f. Bacteriologie, 1898, Bd. IV, Nr. 5, S. 161.

3) Zur Rassen- und Socialhygiene der Griechen, 1897, S. 41; Handbuch der Hygiene, 1899, S. 296.

4) Centralblatt f. Bacteriologie, 1898, Abth. II, Bd. IV, S. 593.

Digitized by Google

brachte von Freudenreich[1]) weitere Belege dafür, dass die Milchsäurebacterien thatsächlich die Eiweisssubstanz des Käses verändern.

Eine hiergegen scheinbar à priori sprechende Thatsache, dass nämlich die Milchsäure bei einer gewissen Concentration dem weiteren Vegetiren der Milchsäurebacterien Einhalt gebietet, lässt sich jetzt besser verstehen. Nach den Untersuchungen von Hueppe hatte sich herausgestellt, dass die Menge der Milchsäure, bei welcher diese Grenze erreicht ist, nach den Nebenbedingungen, z. B. Art des Nährmaterials, Zutritt von Luft schwankt, in der Milch selbst unter gewöhnlichen Verhältnissen etwa bei 0,8% liegt. So viel Milchzucker, um diese Grenze zu erreichen, dürfte aber bei der Käsefabrikation wohl immer mitübertragen werden. Nun hat aber Kabrhel[2]) ermittelt, dass aus Milchzucker gebildete Milchsäure durch Paracaseïn, und Timpe[3]), dass sie von den Phosphaten gebunden wird. Dazu kommt, dass im Käse unter den Verhältnissen der Luftbeschränkung im Innern nach Hueppe[4]), des Luftabschlusses nach Epstein[5]) die Säuremenge im Käse kaum so gross werden kann wie in der Milch selbst. Unter diesen Verhältnissen sind im Käse Bedingungen gegeben, welche es ermöglichen, dass die Bildung der Säure einem Weiterwirken der Milchsäurebacterien nicht entgegentritt.

Wenn auch im Einzelnen die Ansichten noch sehr weit auseinandergehen, so hat sich doch ergeben, sowohl bei der rohen Empirie, wie sie bei den Türken in Betracht kommt, als bei den wissenschaftlichen Untersuchungen von Hueppe und von Freudenreich als bei den wissenschaftlich geklärten, praktischen Versuchen von Hueppe und Persyn und von Freudenreich, dass die richtige Milchsäuregärung für die Einleitung der richtigen Käsereifung entscheidend ist, und ferner aus den Versuchen von Hueppe,

1) Centralblatt f. Bacteriologie, 1897, S. 231; 1898, Bd. II, S. 170.
2) Allg. Wiener med. Zeitung, 1889, Nr. 52 u. 53.
3) Archiv f. Hygiene, 1893, Bd. XVIII, S. 1.
4) a. a. O., S. 341, 347.
5) a. a. O., S. 156.

Persyn und von Freudenreich ganz bestimmt, dass für die Hartkäse die richtige Milchsäuregärung für den ganzen Verlauf bestimmend ist.

Hält man die beiden grossen bacteriologischen Ermittelungen für das Molkereiwesen sich vor Augen, die zuerst von Hueppe, dann besonders von Storch, Weigmann und von Freudenreich festgestellt und in die Praxis übertragen wurden, nämlich: 1. die specifische Richtung der Rahmsäuerung durch reincultivirte Säurewecker; 2. die Einleitung der richtigen Käsereifung durch specifische Milchsäurebacterien, so muss man mit Hueppe weiterschliessen, dass für die Molkerei-Industrie die bisherige Art des Vorgehens noch nicht die Höhe des praktisch Möglichen bezeichnet. Es ist z. B. möglich, einen Säurewecker zu cultiviren, welcher innerhalb 20 Stunden Butter von ganz bestimmtem Aroma liefert. Aber dieselben Säureerreger können unfähig sein, einen Käse jener Art zu bilden, der in einer Gegend erzeugt wird.

Es muss also die nächste Aufgabe sein, beide Processe derart zu verbinden, dass man durch die Säurewecker und ihre massenhaften Milchsäurebacterien nicht allein die Butterung richtig leitet, sondern dass man dadurch auch Bacterien einführt, welche der betreffenden Molkerei die Ausnützung der Milch zur Käsebereitung nicht erschweren. Es ist z. B. möglich, dass ein ausgezeichneter Säurewecker für die Butter den Käse vollständig verdirbt weil er zu stark peptonisirt oder durch zu starke Gasbildung Blähkäse bewirkt. Ist einmal ein solcher Fehler in eine Molkerei eingeführt, so ist es bekanntlich sehr schwer, denselben zu entfernen. Gelingt es schon schwer, ganz fremdartige Bacterien, z. B. die der rothen oder blauen Milch, zu beseitigen, so ist die Trennung von in Bezug auf ihre Wirkung nahestehenden Arten, wie es die verschiedenen Milchsäureerreger sind, noch sehr viel schwerer, ja die Aufgabe erscheint praktisch sogar noch viel schwieriger, als die Reinhaltung von Culturhefen in Bezug auf wilde Hefen. Diese Schwierigkeiten werden sich selbstverständlich nicht in allen Betrieben gleichmässig ergeben und die Milchwirthschaften in einer Gegend werden vielleicht mehr die Butter-

Digitized by Google

erzeugung, in einer anderen Gegend mehr die Käserei bevorzugen, so dass man darauf besondere Rücksicht nehmen kann.

Aber sicher ist es noch richtiger, wenn man von vornherein darauf ausgeht, allen diesen Schwierigkeiten grundsätzlich zu begegnen. Wie weit sich dieser Gesichtspunkt einmal in der Praxis Geltung verschafft, ob man bei dem jetzigen Indifferentismus weiter Kreise überhaupt schon mit diesen Gesichtspunkten rechnen kann, erscheint gleichgültig gegenüber dem Umstande, dass wissenschaftlich diese neue Forderung von Hueppe bereits aufgeworfen werden durfte, als eine derartige, die auch praktisch eine Rolle spielen kann.

Um einmal dieser Frage näher zu treten, habe ich über Aufforderung von Professor Hueppe eine Reihe der zur Zeit gebräuchlichsten Säurewecker einem genauen Studium unterworfen. Die Säurewecker werden so wie viele Enzyme in Mischung mit Stärke handelsfähig gemacht und stellen im allgemeinen weisse Pulver dar, deren Hauptbestandtheil Stärkekörner bilden. Bis jetzt habe ich keinen Säurewecker bekommen, der nur Milchsäurebacterien enthält, sondern, wie es bei dieser Darstellung auch unvermeidlich erscheint, waren neben Milchsäurebacterien auch andere Keime, besonders häufig solche aus der Gruppe der Heubacillen vorhanden. Bei directen Culturversuchen waren sogar häufig die fremden Keime der Zahl nach ganz bedeutend überwiegend. Es musste deshalb für meine Versuche erst eine relative Reincultur dadurch erzielt werden, dass der Säurewecker in Milch übertragen wurde, die immer genau so behandelt wurde, wie es auf den Gebrauchsanweisungen der einzelnen Säurewecker vermerkt war. Die Eröffnung der Flaschen und die Entnahme erfolgte nur der Vorsicht halber in steriler Weise, um unnöthige Verunreinigungen auszuschliessen. Auf diese Weise kam dann eine Säuerung der Milch zu Stande bei Temperaturen von ungefähr 30 35° und damit ein Ueberwiegen der Säurebacterien, die nunmehr leicht reincultivirt werden konnten.

Um einen Ueberblick für das Verhältnis der Säurebacterien zu den anderen zu bekommen, wurden die Gelatine- bezw. Agarplatten mit fein geschlemmter Kreide beschickt nach dem

Vorgange von Beijerinck[1]). Die Auflösung des kohlensauren Kalkes in der Umgebung der Colonien kennzeichnet die Säurebacterien dann sehr deutlich. Selbstverständlich muss noch festgestellt werden, ob es sich auch wirklich um Milchsäure handelt, doch davon später.

1. Entwickler Lorenz I bezeichnet Nr. 2645. Caseïncoagulum ist nach dem Gerinnen stark zerrissen, von Blasen durchsetzt. Geruch und Geschmack der geronnenen Milch sehr angenehm und aromatisch. Nach 3 Tagen sind auf den Kalkplatten Colonien mit einem 3 mm breiten, lichten Hofe. Die weitere Reinigung erfolgte durch Platten mit Milchzuckergelatine.

Die sterilisirte Milch und die übrigen Lösungen wurden in allen Fällen vor der Verwendung im Brutschrank auf Keimfreiheit geprüft. Beim Sterilisiren der Milch wurde die Zeit des Verweilens im Dampfe nach Möglichkeit abgekürzt durch discontinuirliches Erwärmen, um ein Caramelisiren des Zuckers zu vermeiden, welches nach Untersuchungen von Hueppe und Wróblewski neben theilweiser Caseïnfällung bei zu langem Erhitzen zu befürchten ist.

Das Säurebacterium aus Lorenz I coagulirte Milch bei 30 bis 37° innerhalb 24 Stunden. Das ausgeschiedene Caseïn war auch bei der Reincultur stark zerrissen und mit reichlichen Gasblasen durchsetzt, die Milch hatte einen angenehmen esterartigen Geruch.

2. Lorenz II betrifft ein 8 Monate später geschicktes Material. Die Milch war nach 30 Stunden bei 35° geronnen, das ausgeschiedene Coagulum war gleichmässig erstarrt ohne besondere Bildung von Gas.

3. Barnekow's lactic acid ferment. Der reincultivirte Säureerreger brachte Milch bei 35° in 48 Stunden zur Gerinnung. Daneben waren reichlich Sarcine und Bac. subtilis vorhanden.

4. Syrevaekker aus Chr. Hansen's Tekn. Kem. Laboratorium. Die sterilisirte Milch war bei 35° in 20 Stunden geronnen. Das Caseïn war gleichmässig gelatinös erstarrt. Daneben war ein

1) Centralblatt f. Bacteriologie, 1891, Bd. IX, Nr. 24.

Sprosspilz vorhanden, der am Gipsblock Ascosporen, in Zuckerlösungen Alkohol gab, aber Milchzucker nicht angriff. Ich habe diese Hefe nur deshalb genauer untersucht, weil früher von Duclaux, Adametz, Beijerinck Hefen cultivirt waren, welche Milchzucker in Alkohol und Milchsäure vergoren und von Hueppe und Grotenfelt eine Hefe cultivirt war, welche Milchzucker in Milchsäure und Spuren von Alkohol verwandelte.

5. Normal-Syrevaekker von Blauenfeldt und Tvede. In diesem Präparate wurden weder direct noch indirect Milchsäurebacterien gefunden, sondern nur Heubacillen und eine andere Form von Stäbchen, die sowohl bei Luftzutritt als bei Luftabschluss aus Zuckerlösungen Buttersäure bildete. Milch wurde durch diesen Säurewecker coagulirt unter gleichzeitigem Auftreten eines unangenehmen buttersäureähnlichen Geruches. Später erfolgte Peptonisirung des Coagulums.

6. Säurebildner Witte. Die reincultivirten Säurebacterien brachten die sterilisirte Milch bei 24° in 20 Stunden zur Gerinnung. Das Caseïn war regelmässig geronnen, aber scheinbar etwas geschichtet. Der Geschmack war gut, der Geruch nur säuerlich.

Ausser diesen Säureweckern habe ich noch aus Milch und anderen Erzeugnissen gewonnene Milchsäurebacterien in die Untersuchung gezogen und zwar:

7. *SI.* Kurze, dicke Stäbchen, welche die Milch nach 30 Stunden coagulirten; das Coagulum theilweise zerrissen, schwache Gasbildung.

8. *SU.* Dicke Stäbchen, coaguliren die Milch in 40 Stunden, das ausgeschiedene Coagulum zerrissen, starke Gasbildung, Geruch nach Emmenthaler Käse.

9. Aus saurem Schmetten isolirt. α) Milch in 18 Stunden geronnen, das ausgeschiedene Coagulum schön gleichmässig.

10. und 11. β) und γ) Aehnlich wie 9. Das Coagulum geschichtet, Geruch säuerlich aromatisch.

12. Aus Barszcz (siehe Epstein: Untersuchung über die Borscht oder Barszcz genannte Gärung der rothen Rüben[1]) gezüchtet. x ähnlich 7 und 8.

1) Archiv f. Hygiene, 1899, Bd. 36, S. 145.

Digitized by Google

13. *y* ähnlich 9.

14. Aus Edamer Käse derart gewonnen, dass mit sterilisirten Instrumenten aus der Mitte der Käse Partikelchen entnommen wurden, die in Milch übertragen, diese in 20 Stunden zur Gerinnung brachten. Mit Reinculturen gerann die Milch schon in 18 Stunden. Das Caseïn zeigt durch Gas einzelne Spalten und Löcher.

15. Ebenso wurde aus Emmenthaler Käse ein Bacterium gezüchtet, welches die Milch aber erst in 4 Tagen zur Gerinnung brachte.

Morphologische und culturelle Eigenschaften der isolirten Säurebacterien.

Morphologisch waren die Unterschiede der verschieden isolirten Organismen ausserordentlich gering, am deutlichsten noch auf den Kreideplatten und in Gelatine-Stichculturen und auf Kartoffeln.

Lorenz I.

Bouillon. Nach 8 Stunden Trübung, nach 24 Stunden Bildung eines Niederschlages, kein Oberflächenwachsthum, keine sichtbare Gasbildung.

Bouillon mit 2proc. Milchzucker. Aehnlich wie vorher, jedoch starke Gasbildung und stark saure Reaction der Flüssigkeit. Im Gärkölbchen starke Ansammlung von Gas, vorwiegend Kohlensäure und spurenweise Wasserstoff.

Milch gerinnt nach 30 Stunden und das Caseïn ist stark von Gasblasen zerrissen.

Milch mit Lackmus versetzt wird erst roth, dann durch Reduction zu Leucoverbindungen entfärbt. Durch Schütteln an der Luft wird die rothe Farbe wieder hergestellt.

Labmolke wird nach 20 Stunden diffus getrübt unter Gasbildung.

Auf Kreideplatten mit Milchzucker-Gelatine bilden sich innerhalb 4 Tagen runde, erhabene Colonien von weisslich gelblicher, im durchfallenden Lichte von brauner Farbe.

Auf Strichculturen mit Milchzucker-Gelatine breite, gelblichweisse Auflagerungen mit scharfen Rändern.

Digitized by Google

Auf Kartoffeln nach 30 Stunden schwache, glänzend gelbliche Auflagerungen.

Mikroskopisch. Stäbchen, etwa dreimal so lang als breit.

Im hängenden Tropfen ohne Bewegung.

Auf den verschiedenen Nährböden keine wesentlichen Unterschiede in der Grösse.

Lorenz II.

Bouillon nach 18 Stunden getrübt, kein Oberflächenwachsthum, später flockiger Niederschlag, spurenweise Gasbildung.

Bouillon mit 2proc. Milchzucker. Ueppiges Wachsthum, starker Bodensatz, starke Säuerung, angenehmes Aroma.

Labmolke wird mässig getrübt, später Ausscheidung von Flocken, die sich beim Schütteln wieder zu einer trüben Flüssigkeit auflösen.

Milchzucker-Gelatine-Kreideplatten. Nach 4 Tagen kleine, runde Colonien von gekörntem Aussehen, von einem hellen Hof umgeben.

Milchzucker-Gelatine in Stichculturen. Längs des Impfstiches deutliches Wachsthum, schwaches Oberflächenwachsthum; nach einigen Tagen bildet sich oben ein Trichter infolge langsamer Peptonisirung der Gelatine.

Im Impfstrich eine dicke, granulirte, gelblichweisse Auflagerung, in deren Umgebung die Gelatine verflüssigt wird.

Auf Agar-Agarstrichen mässige, glänzend weisse Auflagerungen.

Auf Kartoffeln dünne, feuchte, stark ausgebreitete, gelbliche Auflagerung.

Mikroskopisch kleine, dicke, die Grösse von Bact. coli erreichende Stäbchen, die theils einzeln, theils in Kettenform gelagert sind und sich gleichmässig färben.

Im hängenden Tropfen Eigenbewegung.

Barnekow.

Bouillon mässiges, diffuses Wachsthum ohne Gasbildung.

Milchzucker-Bouillon mässiges Wachsthum, schwache Säurebildung, nach 6 Tagen starker Niederschlag.

Labmolke. Geringe Trübung mit mässigem Bodensatz.

Gelatinestich. Feines Wachsthum längs des Stiches. Kein Oberflächenwachsthum.

Im Strich mässige Entwickelung einzelner Colonien mit fein granulirtem Rande.

Auf Agar-Agar nur wenig sichtbarer Strich.

Auf Kartoffeln kein Wachsthum.

Mikroskopisch. Kleine, unbewegliche Stäbchen, fast ebenso lang wie breit, gut färbbar.

Hansen.

Bouillon. Wenig trüb, mässiger Bodensatz.

Bouillon mit Milchzucker. Wenig getrübt, starke Säuerung, geringer Bodensatz.

Milchzucker-Gelatine; auf Kreideplatten nach 5 Tagen mohnkorngrosse, runde, erhabene, weissliche Colonien mit einem 2 mm breiten, hellen Hof.

Milchzucker-Gelatine im Stich feines Wachsthum, die Seiten des Stichcanales grob granulirt.

Im Striche. Weisse, wenig erhabene, matte Auflagerungen mit scharfen Rändern.

Auf Agar-Agar sehr zarte, graue Auflagerung.

Witte.

Bouillon. Schwache Trübung, starker Bodensatz.

Bouillon mit Milchzucker. Schwache Trübung, später starker Bodensatz. Starke Säurebildung.

Labmolke. Mässige Trübung. Geringer, aber fest am Boden haftender Bodensatz, der sich beim Schütteln in unregelmässigen Plättchen aufwirbeln lässt.

Milchzucker-Gelatine. Im Stich üppiges Wachsthum, kein Oberflächenwachsthum. Im Strich kleine, einzelne, weissliche Colonien.

Auf Agar-Agar sehr zarte, punktförmige Colonien.

Mikroskopisch. Stäbchen, fast so lang wie breit, in Ketten von zwei bis vier zusammenhängend. Keine Bewegung.

Digitized by Google

S. I.

Bouillon. Stark getrübt, von unangenehmem Geruch. Oberflächenwachsthum und später am Glase festhaftender Ring.

Bouillon mit Milchzucker. Stark getrübt, starke Säurebildung, schwache Gasbildung, Geruch erinnert an Käse.

Im Gärkölbchen nach 24 Stunden schwache Gasbildung. Das Gas besteht nur aus Kohlensäure.

Labmolke. Starke Trübung. Starker Bodensatz, der sich leicht und gleichmässig vertheilt. Dünnes Oberflächenhäutchen.

Milchzucker-Gelatine. Auf der Kreideplatte nach 8 Tagen flache, glatte, unregelmässige bis erbsengrosse, weisse Colonien.

Im Stich sowohl längs des Stiches als an der Oberfläche Wachsthum; die Gelatine wird schwach peptonisirt.

Im Striche. Dicker Belag, blattartig gezackt, mit leicht irisirenden Rändern.

Auf Agar-Agar glatte, durchsichtige Auflagerung.

Auf Kartoffeln gelblich bräunliche Auflagerung mit leicht ausgebuchteten Rändern.

Mikroskopisch. Kleine, dicke, meist paarweise zusammenhängende, plumpe Stäbchen mit Eigenbewegung.

S. U.

Bouillon. Wachsthum ähnlich dem vorigen.

Bouillon mit Milchzucker. Ebenfalls, nur stärkere Trübung.

Im Gärkölbchen starke Gasbildung und zwar Kohlensäure und Wasserstoff.

Labmolke. Starke Trübung, später reichlicher Bodensatz und Oberflächenhaut.

Milchzucker-Gelatine. Aehnlich dem vorigen im Stich und Strich. Im Strich wird jedoch die Gelatine durch Gasbildung stark zerrissen.

Auf Agar-Agar durchsichtige, weisse Auflagerung.

Mikroskopisch. Wie der vorige. Jedoch ist die Bewegung schwächer und fehlt bisweilen.

Digitized by Google

α.

Bouillon. Stark getrübt. Bodensatz und Häutchen. Keine Gasbildung.

Bouillon mit Milchzucker. Aehnlich, jedoch stärkere Säuerung und stärkeres Aroma.

Im Gärkölbchen schwache Gasbildung.

Mit Lackmus versetzte Milch wird entfärbt.

Labmolke. Stark getrübt, feinflockiger Bodensatz.

Milchzucker-Gelatine. Auf Kreideplatten nach 4 Tagen mohnkorngrosse, erhabene, von einem 2 bis 3 mm breiten Hofe umgebene Colonien.

Im Strich weisse, glatte, glänzende Auflagerung.

Auf Agar-Agar sehr zarte, granulirte Colonien.

Auf Kartoffeln kein Wachsthum.

Mikroskopisch. Kurze, plumpe, zu zwei oder in Haufen angeordnete Stäbchen mit guter Färbung; ohne Eigenbewegung.

β.

Bouillon. Starke Trübungen, Bodensatz.

Bouillon mit Milchzucker. Ueppiges Wachsthum, starke Säuerung, keine sichtbare Gasbildung, aromatischer Geruch.

Labmolke. Getrübt; am Boden festhaftender Niederschlag; starke Säuerung.

Milchzucker-Gelatine. Im Striche eine zarte, weiss glänzende Entwickelung der Colonien; kein Oberflächenwachsthum.

Auf Agar-Agar sehr feiner, weisslicher Belag mit zackigem Rand.

Auf Kartoffeln zarte, weisse Auflagerungen.

Mikroskopisch. Kleine Stäbchen, fast so dick wie lang, einzeln oder zu zwei angeordnet, ohne Eigenbewegung.

γ.

Fast vollständig wie *β*.

Nur in Labmolke ist ein bedeutender Unterschied, indem am Boden kein festhaftender Niederschlag sich bildet.

Auf Kartoffeln findet kein Wachsthum statt.

Google

Edamer Käse.

In Bouillon üppiges Wachsthum.

In Bouillon mit Milchzucker üppiges Wachsthum, starke Säurebildung, geringe Gasbildung, angenehmes Aroma.

Im Garkölbchen wenig Gas, welches vorwiegend aus Wasserstoff und nur zum geringen Theil aus Kohlensäure besteht.

Milchzucker-Gelatine. Auf Kreideplatten nach 4 Tagen über mohnkorngrosse, weisse, runde Colonien, hie und da ein Gasbläschen enthaltend. Rings um jede Colonie ein breiter, heller Hof, bei schwacher Vergrösserung kreisrund mit scharfem Rand.

Emmenthaler Käse.

Bouillon schwach getrübt.

Bouillon mit Milchzucker. Schwache Trübung, geringere Säuerung, keine Gasbildung.

Milchzucker-Gelatine. Auf Kreideplatten nach 8 Tagen runde, sehr kleine, kaum mohnkorngrosse Colonien mit 1 mm breitem, lichten Hofe. Mikroskopisch sind die Colonien gelb, rund, mit scharfen Rändern.

Im Stich üppiges, an der Oberfläche kein Wachsthum.

Im Strich eine 2 bis 3 mm breite, glänzende, am Rande granulirte Auflagerung.

Auf Kartoffeln kein Wachsthum.

Mikroskopisch. Kurze, fast eiförmige Bacterien, meist in Gruppen beisammen, ohne Bewegung.

In Bezug auf die aus Barszcz isolirten Bacterien verweise ich auf meine bereits oben citirte Arbeit.

Chemische Untersuchung der Stoffwechselproducte.

Zum Studium der Stoffwechselproducte ist die Milch nicht so geeignet, weil in grösseren Mengen die Sterilisirung derselben Schwierigkeiten bereitet und weil ferner die Caramelisirung des Zuckers schwer zu vermeiden ist; während wiederum bei den ganz künstlichen Nährböden von den natürlichen Bedingungen zu sehr abgewichen wird. Diese Uebelstände liessen sich am besten vermeiden durch Verwendung einer Labmolke. Milch

wurde mit Lab versetzt, das ausgeschiedene Paracasein durch Filtration entfernt und die nach dem Auspressen resultirende Flüssigkeit wurde durch ein Berkefeld-Filter filtrirt. Ich erhielt auf diese Weise ein klares, schwach gelblich opalisirendes Filtrat. Zu jedem Versuche dienten 2 Liter Molke, welche noch einen Zusatz von kohlensaurem Kalk erhielt. Diese sterile Labmolke wurde nunmehr mit den Mikroorganismen geimpft und bei 35° C. 8 Tage lang stehen gelassen. Die durch das Bacterienwachsthum entstandenen Säuren waren selbstverständlich zum Theil an Kalk gebunden, d. h. als Salz vorhanden.

Zur Alkoholbestimmung wurde eine Probe der Destillation unterworfen und das übergehende Destillat mit Jod und Kalilauge der Jodoformreaction unterworfen. Die übrige Molke wurde bis zur Trockene eingedampft, mit concentrirter Phosphorsäure behandelt, um so die an Kalk gebundene Säure zu isoliren. Zur Trennung der flüchtigen Säure von den nicht flüchtigen wurde mit gespanntem Wasserdampf übergetrieben. Der im Kolben als nicht flüchtig verbleibende Rückstand wurde dann noch einmal eingeengt, mit Aether ausgeschüttelt, und auf diese Weise konnte die Milchsäure von den Beimengungen getrennt werden. Nach Abdampfen des Aethers wurde die Milchsäure sowohl durch die Uffelmann'sche Reaction qualitativ als auch nach Ueberführung in das Zinksalz und Krystallwasserbestimmung des letzteren quantitativ bestimmt. Die flüchtigen Säuren wurden mit Soda neutralisiert, zur Trockene eingedampft. Ein Theil der resultirenden Salze wurde mit Alkohol und Schwefelsäure auf Essigsäure geprüft, ein anderer mit Phosphorsäure einer nochmaligen Destillation unterworfen, um auch etwaige Ameisensäure zu ermitteln.

Es bildete:

Lorenz I: Milchsäure, Spuren von Essigsäure.

Lorenz II: Milchsäure, Alkohol, Spuren von Pepton.

Hansen: nur Milchsäure.

Witte: nur Milchsäure.

S I: Milchsäure, Spuren von Essigsäure, Spuren von Pepton. Das Destillat hat Geruch nach Skatol.

Digitized by Google

S U: Milchsäure, Spuren von Essigsäure und Buttersäure.
α: nur Milchsäure. Destillat hat esterartigen Geruch.
β: nur Milchsäure.
γ: nur Milchsäure. Destillat hat angenehmen, an bittere Mandeln erinnernden Geruch.
Edamer Käse: nur Milchsäure.
Emmenthaler Käse: nur Milchsäure.
x: Milchsäure, Essigsäure, Ameisensäure.
y: Milchsäure, Essigsäure.

Wenn auch die Milchsäure von allen gebildet wird, so sind doch die Unterschiede in Bezug auf die Nebenproducte und den Geruch so verschieden, dass man wohl ohne weiters erkennen muss, dass Organismen von so verschiedenen Eigenschaften auf die beabsichtigten Producte, Butter und Käse, von ganz bestimmtem Einflusse sein müssen.

Specielle Untersuchung auf die Art der gebildeten Milchsäure.

Die ursprüngliche Auffassung, dass bei der Milchsäuregärung nur inactive Milchsäure gebildet werde, hat sich als nicht richtig herausgestellt. Schardinger hat, wie schon erwähnt, bei einer Milchsäuregärung die bis dahin unbekannte Links-Milchsäure entdeckt. Günther und Thierfelder fanden Mischung von inactiver und Rechts-Milchsäure. Kozai[1]) fand in spontan geronnener Milch sowohl Rechts- als Linksmilchsäure. Péré[2]) fand, dass ein Bac. coli bei bestimmter Ernährung inactive, bei anderer Rechtsmilchsäure bildet, und dass beim Ueberschusse an Pepton keine active Milchsäure zu finden ist. Kayser[3]) fand, dass dieselben Milchsäurebacterien aus denselben Zuckerlösungen sogar verschiedene Säuren bilden. Nencki und Sieber[4])

1) Archiv f. Hygiene, 1899, Bd. XXXI, S. 337.
2) Annales de l'Institut Pasteur, 1892, S. 512.
3) a. a. O.
4) a. a. O.

fanden, dass der Micrococcus acidi paralactici nur Rechtsmilchsäure bildet.

Die Labmolke wurde ebenso wie bei den früheren Versuchen und in gleicher Menge von 2 l sterilisirt, geimpft und 14 Tage bei 35° gelassen. Nach 24 Stunden und nach 14 Tagen wurde in einer kleinen Menge der Flüssigkeit die Acidität mit Normalnatronlauge bestimmt. Nach Abbrechung des Versuches wurde der Rest der Flüssigkeit fast bis zur Trockene eingedampft, mit concentrirter Phosphorsäure zerrieben und mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung der Milchsäure wurde nunmehr vom Aether befreit, der ölige Rückstand mit Zinkcarbonat neutralisirt und zweimal aus Wasser umkrystallisirt. Die auf diese Weise gewonnenen Krystalle wurden auf Thontellern von Feuchtigkeit befreit, im Exiccator fertig getrocknet. So bekam man milchsaures Zink, welches für die Untersuchung geeignet war. Das milchsaure Zink kann entweder 2 oder 3 Moleküle Krystallwasser verlieren, denn rechts- und linksmilchsaures Zink krystallisiren mit 2, das inactive Zinklaktat mit 3 Molekülen Wasser. Ausserdem wurde jedes Zinksalz polarimetrisch geprüft.

Das Verhalten der Säure ergibt summarisch folgende Tabelle:

Mikroorganismus	Nach 24 Stunden in 20 ccm	Nach 14 Tagen	Geruch
Lorenz I .	1 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	2,2 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	aromatisch
Lorenz II .	1,7 » » » »	2,8 » » » »	sehr aromatisch
Barnekow	1,8 » » » »	3,0 » » » »	—
Hansen .	2,2 » » » »	3,5 » » » »	aromatisch
Witte . .	3,6 » » » »	4,0 » » » »	säuerlich
S I . . .	2,5 » » » »	2,5 » » » »	aromatisch
S U . . .	3,1 » » » »	3,5 » » » »	sehr angenehm nach Emmenthaler
α . . .	4,0 » » » »	4,0 » » » »	säuerl. aromatisch
β . . .	3,2 » » » »	4,0 » » » »	ohne Geruch
γ . . .	2,5 » » » »	3,0 » » » »	aromatisch
$\times$ . . .	1,0 » » » »	alkalisch	Geruch nach Leim
Edamer Käse .	2,4 » » » »	2,5 ccm $^1/_{10}$ Norm. NaOH	nach Pflaumenkernen
Emmenthaler Käse	0	1 » » » »	ohne Geruch

Die besonderen Verhältnisse der Milchsäure ergibt folgende Tabelle:

Mikroorganismus	Verwandte Menge d. kryst. milchsauren Zinks in Gramm	Krystallwasser		Polarisation
		absolut in Gramm	in 100 Theilen v. milchsaurem Zink	
Lorenz I . .	1,0556	0,1913	18,12	± 0
Lorenz II .	0,8150	0,1466	17,98	± 0
Barnekow .	1,3020	0,2278	17,50	± 0
Hansen . .	0,9468	0,1693	17,77	± 0
Witte . . .	1,1988	0,2033	16,96	sehr geringe Drehung n. links
S I	0,9122	0,1642	18,00	± 0
S U	0,8564	0,1284	14,99	dreht n. rechts
α	1,046	0,1778	16,9	± 0
β	0,5800	0,1044	18,00	± 0
γ	0,885	0,1522	17,2	± 0
Edamer Käse	0,6984	0,1212	17,35	± 0

Emmenthaler Käse gab nur so kleine Mengen von Milchsäure, so dass man dieselbe nicht bestimmen konnte.
Ueber x und y siehe die oben genannte Arbeit.

Aus der zweiten Tabelle ist zu entnehmen, dass die absolute Menge der Milchsäure unter ganz gleichen Aussenbedingungen für die einzelnen Arten der Mikroorganismen sehr verschieden ist. Es ergibt sich aber weiter, dass die meisten Arten nur inactive Milchsäure bilden und nur eine, wie es scheint ausschliesslich, Linksmilchsäure und eine etwas Rechtsmilchsäure bildet.

Um zu sehen, ob bei dem Nebeneinandervorkommen von verschiedenen Milchsäureerregern der stärker säurebildende den schwächeren ganz unterdrückt, wurde ein derartiger Versuch gemacht, indem der aromatische Lorenz I mit dem vorwiegend säuerlichen Witte combinirt wurde. Die Aromabildung war in diesem Falle kaum beeinträchtigt.

Einfluss der reincultivirten Milchsäurebacterien auf die Käsereifung.

Für diese Ermittelung musste eine besondere Technik erprobt werden, weil nur mit sterilisirten Substraten gearbeitet werden durfte. Die Sterilisirung der Milch erfolgte nach Hueppe

discontinuirlich bei Temperaturen zwischen 65—70°. Derartig behandelte Milch bleibt durch Lab coagulirbar. Wenn auch vielleicht, worauf ich für meine Zwecke aber nicht zu achten hatte, die quantitative Ausbeute an Käse dabei nicht so gross sein sollte als bei nicht sterilisirter Milch, so ergab sich doch, dass zur Lösung wissenschaftlicher Fragen über Käsereifung sterile Milch sehr gut verwerthbar ist.

Grössere Schwierigkeiten machte ferner die Sterilisirung von Lab. Hier konnte nicht durch Zusatz chemischer Mittel gearbeitet werden, selbst nicht von solchen, die vielleicht durch Erwärmen zu entfernen waren, sondern es musste unbedingt mit Rücksicht auf die grosse Empfindlichkeit der activen Eiweisskörper, als welche wir die Enzyme anzusprechen haben, in einer Weise vorgegangen werden, welche der Activität keinerlei Eintrag thut. Das einzige Verfahren, welches zu diesem Zwecke verwerthbar ist, ist das Filtriren.

Auch das discontinuirliche Erwärmen konnte nicht verwerthet werden, weil es bei relativ niedrigsten Temperaturen ganz unzuverlässig wirkt und andererseits bei den höheren Temperaturen, bis zu denen man gehen kann, die Wirkung zu sehr geschwächt wurde.

Um immer mit gleichem Material zu arbeiten, wurden ausschliesslich die Hansen'schen Tabletten verwendet. Eine solche Tablette enthält nach von Freudenreich bis zu 40000 lebensfähige Bacterienkeime. Die Tabletten wurden bei 37° in Wasser aufgelöst und verblieben mehrere Stunden in dieser Temperatur, dann wurde die Lösung durch Berkefeld-Filter filtrirt und so ein vollständig keimfreies Filtrat gewonnen. Es tritt dabei ein Verlust an Stärke derart ein, dass 6 Tabletten eine nur so kräftige Wirkung ausübten, wie eine von den unfiltrirten. Dieser Verlust konnte für meine Zwecke vernachlässigt werden. Die auf diese Weise erhaltene Lablösung hat eine gelbliche, schwach opalisirende Farbe. Da die Lösung vielen Bacterien als Nährboden dienen kann, so muss zum Aufbewahren und Entnehmen sehr sorgfältig vorgegangen werden. Dies wurde in einfachster

Digitized by Google

Weise erreicht durch einen von mir construirten Apparat zum sterilen Abfüllen von Flüssigkeiten.[1])

Um aus Vollmilch Weichkäse zu erhalten, muss bei niederer Temperatur gelabt, die Käsemasse nur wenig abgepresst und schnell zur Reife gebracht werden, während Hartkäse bei höherer Temperatur gelabt, stark gepresst und langsamer zur Reife gebracht werden. Für unsere Zwecke kam es nicht sowohl auf diese Unterschiede an, als vielmehr darauf, ein sicheres Handhaben unter gleichen und somit vergleichbaren Verhältnissen zu ermöglichen, bei denen eine Mitwirkung nicht gewollter Keime streng ausgeschlossen war.

Zu diesem Versuche wurden je 10 l Milch, welche in obiger Weise sterilisirt waren, bei einer Temperatur von 35° je 40 Minuten gelabt. Das Gerinnsel wurde dann durch Abgiessen von der Molke befreit und darauf in einen sterilisirten Trichter gebracht, der mit einem sterilen Presstuche ausgekleidet war. Darauf wurde das Coagulum abgepresst und mit der betreffenden Reincultur versetzt, die in Labmolke herangezüchtet war. Dann wurde ein steriles Tuch über den Trichter gedeckt und nach Auflegen einer Glasplatte mit einem Gewichte von 6 kg die Masse in Form eines Käses gebracht. Die Beobachtung fand bei Zimmertemperatur statt und wurde einen Monat fortgesetzt.

In jedem einzelnen Falle wurde eine derartige Probe als Controlprobe ohne Zusatz von Bacterien verwerthet, und es sei bemerkt, dass sämmtliche Controlproben ohne jede Ausnahme vollständig steril blieben und nicht die Spur von Reifung zeigten. Eine andere Art der Controle bestand darin, dass sterilisirte Milch mit Milchsäurebacterien geimpft, bis zum Beginn deutlicher Milchsäurebildung sich überlassen und dann erst gelabt wurde. Im Uebrigen war die Behandlung dieselbe. Dann aber wurden die fertigen Käsemassen durch eine Temperatur von 70° discontinuirlich sterilisirt und durch Controle festgestellt, dass keine lebenden Keime mehr darin waren. Diese milchsäurehaltigen Käse ohne lebende Bacterien zeigten ebenfalls keinerlei Erscheinung der Käsereifung.

1) Centralblatt für Bacteriologie, 1899, Bd. 26, Nr. 1.

Digitized by Google

Ganz anders war das Ergebnis bei den folgenden Versuchen, bei denen in obiger Weise Reinculturen zu der sterilen Käsemasse zugesetzt waren.

Lorenz I.

Der Inhalt des Käses stark und unregelmässig zerrissen. Das Caseïn schwach gelblich, sonst nicht körnig, sondern mehr compact. Geruch sehr angenehm, Geschmack der eines halbgereiften Käses. Aus demselben wird wieder die ursprüngliche Bacterienart reincultivirt, die in ihrer Wirkungsfähigkeit keinerlei Einbusse erlitten hatte.

Lorenz II.

Inhalt des Käses gleichmässig, ohne Augen. Das Parakaseïn weicher als bei dem vorigen, auch in dünnen Schichen mehr durchscheinend, scheinbar durch Enzyme theilweise peptonisirt. Geschmack eines schwachgereiften Camenbert. Geruch aromatisch. Der isolirte Mikroorganismus in seinen Eigenschaften unverändert.

Barnekow.

Der Käse war fein gelocht, mit schwachem Geruch. Der isolirte Organismus wirkt nicht wesentlich schwächer als früher.

Hansen.

Der Käse mässig fein und gleichmässig gelocht. Geruch sehr angenehm. Sichtbare Reife kaum vorhanden. Der Mikroorganismus, der nach 4 Wochen isolirt wurde, ist identisch mit dem ursprünglichem und hat nichts von seiner Wirkung verloren.

Witte.

Die Käsemasse zeigt einige ganz unregelmässige, kleine Löcher. Er ist ganz weich und körnig. Der Inhalt nur sehr schwach gereift, zeichnet sich jedoch durch angenehmes Aroma aus. Die Milchsäurebacterien sind so stark geschwächt, dass sie die Milch erst in 7 Tagen zur Gerinnung bringen.

S I.

Der Käse homogen, gelblich gefärbt, scheinbar als Folge der Wirkung eines peptonisirenden Enzyms. Der Inhalt ist fein gelocht. Der Geruch eines schwach gereiften Emmenthalers. Der Organismus ist so wirksam wie vorher.

Digitized by Google

S U.

Das Caseïn bildet eine compacte Masse, die fein und gleichmässig gelöchert, von gelblichweissem Aussehen ist. Geruch der eines schwach gereiften Emmenthalers. Die Bacterien zeigen gleich intensive Wirkung wie vorher.

α.

Die Käsemasse ist ganz weiss, ohne Augen. Geruch schwach aromatisch. Milchsäurebacterien unverändert.

β.

Inhalt schwach gelocht. Farbe gelblichweiss. Aroma und Geschmack angenehm. Organismus unverändert.

γ.

Käsestoff weiss, ohne Löcher, Geruch aromatisch. Der Organismus hat seine Fähigkeit, Milch zur Gerinnung zu bringen, vollständig verloren, doch bewirkt er in geringem Maasse Säurebildung.

Edamer Käse.

Caseïn gelblichweiss. Angenehmer Geruch. Geschmack eines schwach gereiften Edamers. Eigenschaften der Bacterien unverändert.

Emmenthaler Käse.

Käsemasse sehr schwach gelocht. Aroma sehr angenehm. Die Wirkung der Bacterien ist ebenso schwach wie zu Beginn.

Aus diesen Versuchen ergibt sich in unzweideutigster Weise, dass

1. die Milchsäuregärungs-Organismen thatsächlich die Richtung der Käsereifung bestimmen und eine richtige Reifung einleiten und vermuthlich auch zu Ende führen können. Selbstverständlich darf darüber das oben kurz berührte Moment der Art der Labung der Milch zur Käsebereitung und die Temperatur der Reifung nicht unterschätzt werden, weil sie die Bedingungen liefert, unter denen die einzelnen Organismen zur Wirkung kommen.

2. Die Arten der Milchsäureerreger sind entscheidend für die Form, in welcher die Reifung eintritt; und zwar wirken sie theils chemisch, indem sie durch

Bildung von Enzymen die Intensität der Reifung bestimmen, theils indem sie weiter den Geruch veranlassen.

Diese Untersuchungen haben demnach im allgemeinen die Richtigkeit der wissenschaftlich praktischen Untersuchungen von Hueppe und Persyn und der späteren Versuche von v. Freudenreich bestätigt.

Nachdem in dem früheren Theil der Untersuchung dargelegt war, dass

1. dieselben Milchsäureorganismen den Charakter der Butter in bestimmter Weise beeinflussen, nachdem jetzt weiter gezeigt ist, dass dieselben Organismen

2. auch auf den Charakter der Käse einen bestimmenden Einfluss ausüben, habe ich wohl hiermit den ersten exacten Beweis für die weitere und neueste

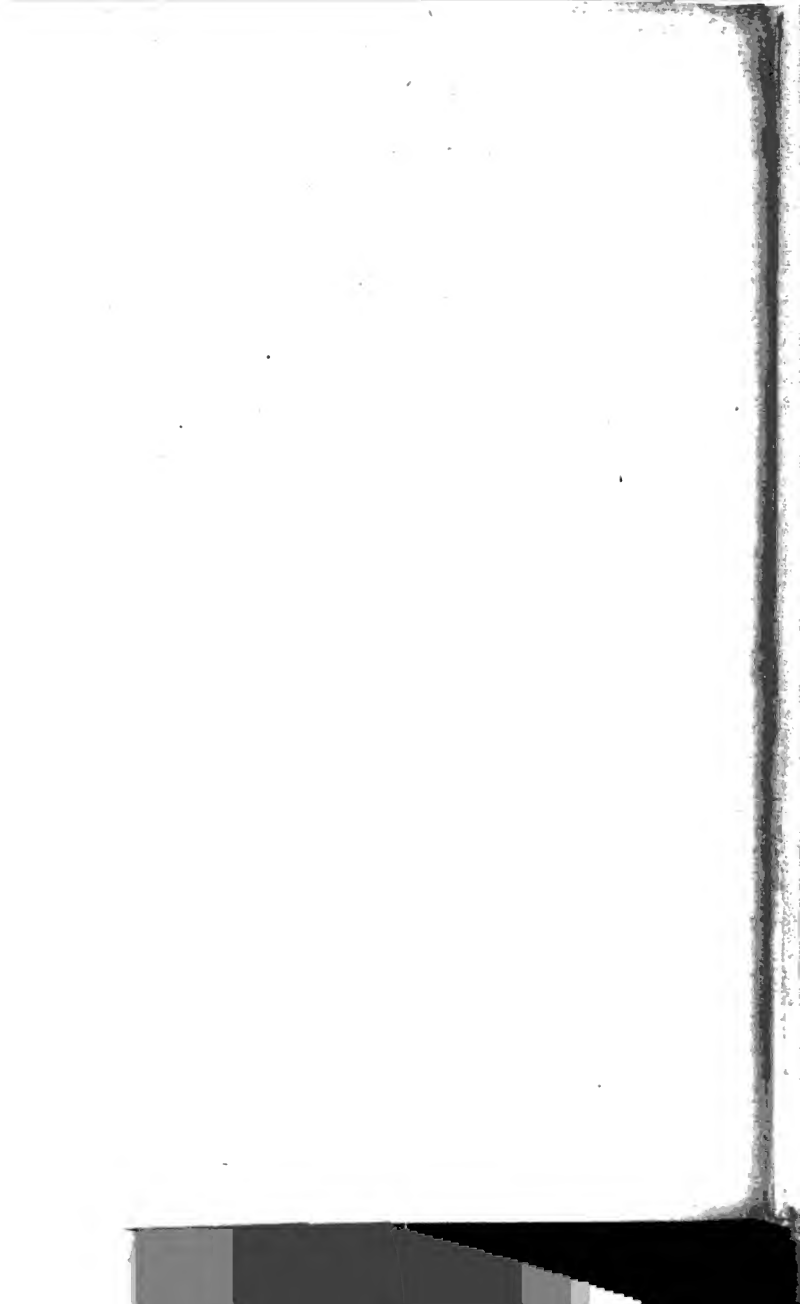
3. Forderung von Hueppe gebracht, dass man in den Molkereien, wenn man sich entschliesst zum Arbeiten mit Reinculturen überzugehen, nicht nur auf den Charakter der Säurewecker für die Butter, sondern auch auf die besondere Art der Käse zu achten hat, welche hergestellt werden sollen.

Die Bacteriologie ist hinach entschieden berufen, im Molkereiwesen der Zukunft eine viel grössere Rolle zu spielen als ihr leider jetzt noch zuerkannt wird.

Digitized by Google

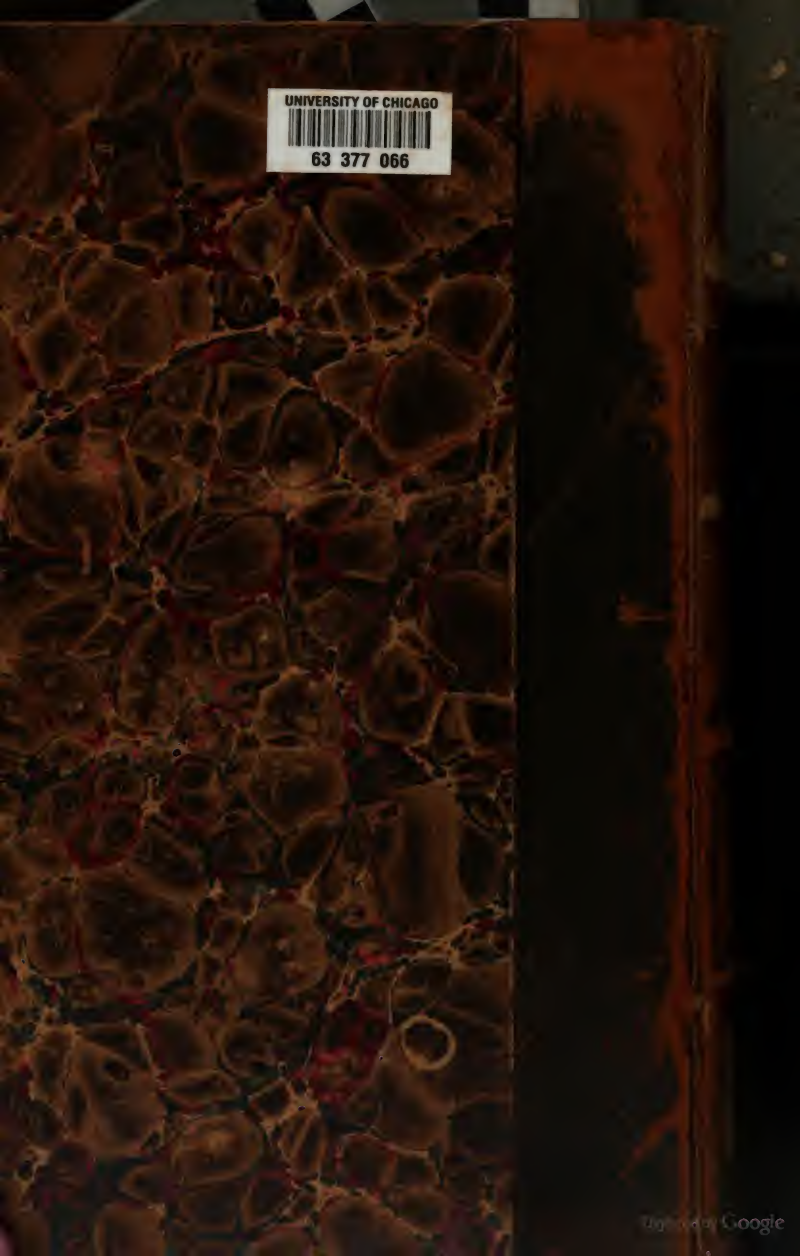
Digitized by Google

Digitized by Google



SHELVED BY TITLE

Google


UNIVERSITY OF CHICAGO
63 377 066
Digitized by Google